

# *Kvalitet av olje framstilt ved ensilering av lakseslo*



*Karoline Swan*

*Mastergradsoppgave i fiskerifag,  
studieretning marine næringsmidler  
(60 stp)*



*Institutt for marin bioteknologi*

*Norges fiskerihøgskole*

*Universitetet i Tromsø*

*Mai 2007*



## Forord

Denne oppgaven er skrevet i samarbeid med Hordafor AS. I løpet av det siste året har jeg jobbet i laboratorium og den siste tiden har vært en intensiv prosess for å få noe ned på papiret. Ved å koble teori og praksis, har jeg begynt å få innsikt i fettkjemi og forståelse for hvilken betydning ulike produksjonsprosesser kan ha for kvalitet av marine oljer. Da Ragnar og jeg besøkte Hordafor for et år siden, var alt dette veldig nytt for meg. Det kunne vært interessant å starte på masteroppgaven i dag, for å se på hvilke faktorer som har betydning for kvalitet av olje framstilt ved ensilering. Til syvende og sist er det vel det man lærer i prosessen som gjør en masteroppgave.

For å få gjennomført denne oppgaven vil jeg takke Harald Halsebakke og Bartal Dulavik som i utgangspunktet ønsket dette samarbeidet og som har introdusert meg for interessante og høyst aktuelle problemstillinger. Jeg vil også få takke Rune Bogen ved Troms slakteridrift for leveringene av lakseslo til produksjon av ensilasje og Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond for stipend.

Tusen takk til Mamma, Pappa og Morten som alltid stiller opp for meg og ellers bidrar med herlige oppfriskninger og ikke minst mye god humor. Beate, Remi og Sina har vært viktige inspirasjonskilder og Cecelia har vært en kreativ bidragsyter til en noe slitt garderobe og en dyktig fotograf. Jeg vil også takke Kristian for å bidra med fantastiske opplevelser og en god porsjon motivasjon.

Ingvild og Guro har vært enestående støttespillere gjennom hele studietiden. Alle på laben har vært til stor oppmuntring det siste året. Jeg vil spesielt takke Alice for å være en glimrende samarbeidspartner, Ole for gode faglige innspill knyttet til omega-3, Silje for livsfilosofi og Hanne for dyktig tilrettelegging og hjelp med alt av praktisk arbeid.

Til slutt ønsker jeg å takke veileder Ragnar L. Olsen først og fremst for et fantastisk kontaktnett som gir muligheter for mange interessante og utfordrende oppgaver ved instituttet, i tillegg vil jeg takke for kyndig og tålmodig veiledning gjennom noen hektiske uker.

Karoline Swan

Tromsø, mai 2007



## Sammendrag

I forbindelse med økt produksjon og foredling av atlantisk laks (*Salmo salar* L.) øker også mengden biprodukter og avskjær. I 2005 ble cirka 114 000 tonn biprodukter fra laks og ørret (*Oncorhynchus mykiss*) ensilert. Fett utgjør i underkant av 20 % og vil utgjøre omtrent 22 000 tonn olje. Rundt halvparten av dette prosesseres av Hordafor AS. Fiskeoljer har et naturlig innhold av langkjedede flerumettede fettsyrer, som har gunstig helseeffekt på mennesker. Disse fettsyrene fører imidlertid til at oljene oksiderer lett og gir opphav til ubehagelig (harsk) lukt og smak. Formålet med denne oppgaven var å undersøke kvalitet av olje framstilt ved ensilering og ferskpressing, samt å se på effektiviteten av en naturlig antioksidant (ox-natural) i forhold til to syntetiske antioksidanter (ethoxyquin og ox-24-8-8). Det ble utført tre ensileringsforsøk. Lakseolje ble analysert for oksidasjonsprodukter, frie fettsyrer og fettsyresammensetning. Ensilering forringer lakseolje ved oksidering av fettsyrer. Tilstedeværelse av transmisjonsmetaller og oksygen under ensileringsprosessen og varmebehandlingen ved prosessering kan være faktorer som stimulere oksidasjon inkludert degradering av hydroperoksider. Oksidasjonstabilitet ble også testet ved provosert oksidasjon, der olje ble innkubert ved 45°C i ristemaskin. Innkubering hadde en varighet fra 7-22 dager. Dette viste seg å gi et godt bilde på effektiviteten til antioksidantene brukt. Ethoxyquin var den antioksidanten som ga best lagringsstabilitet over tid av lakseolje framstilt ved ensilering. De to andre antioksidantene var mindre effektive, men ox-24-8-8 så ut til å være mer effektiv enn ox-natural. Med en konsentrasjon på 2000ppm var imidlertid ox-natural like effektiv som 500ppm ox-24-8-8. Fersk lakseolje hadde overraskende god stabilitet i samme forsøk. Europeisk Pharmacopeia har utviklet kvalitetsparametere for olje fra oppdrettet laks. Blant annet er maksimumsverdier for anisidinverdi satt til 10 og peroksidverdi til 2,5 mmol peroksid per kg olje. Ingen av lakseoljene fra ensilering tilfredsstilte disse parametrene. Rest av ethoxyquin ble funnet i fersk lakseolje uten tilsatt antioksidant, men i små konsentrasjoner. Industrielt produsert lakseolje framstilt ved ensilering var av lignende kvalitet som lakseolje produsert i ensileringsforsøkene beskrevet i denne oppgaven. Industrielt produsert ferskpresset lakseolje var av bedre kvalitet, men bare lakseoljen fra Lifeline tilfredstilte kvalitetsparametere satt av den Europeiske pharmacopeia.

Nøkkelord: Ensilasje, lakseolje, oksidasjonsprodukter, frie fettsyrer, omega-3 fettsyre.



# Innholdsfortegnelse

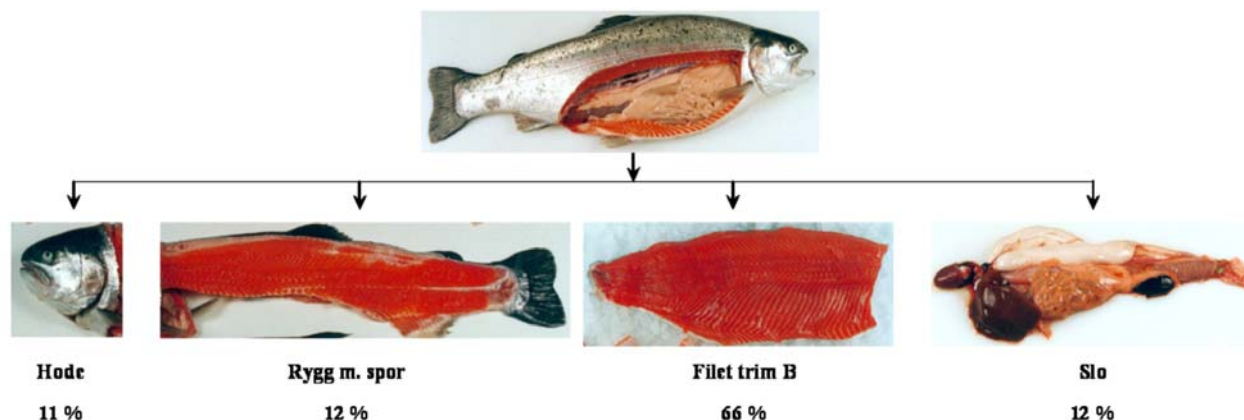
<b>FORORD .....</b>	<b>II</b>
<b>SAMMENDRAG.....</b>	<b>III</b>
<b>INNHALDSFORTEGNELSE .....</b>	<b>IV</b>
<b>1    INNLEDNING .....</b>	<b>1</b>
<b>2    MATERIALER OG METODER.....</b>	<b>7</b>
2.1    ENSILERING .....	7
2.2    INDUSTRIELT PRODUSERTE LAKSEOLJER OG RÅENSILASJE .....	7
2.3    FORSØKSOPPSETT .....	8
2.3.1 <i>Ensileringsforsøk I-III</i> .....	8
2.3.2 <i>Stabilitet av lakseolje framstilt ved ensilering</i> .....	9
2.3.3 <i>Ensileringsforsøk IV</i> .....	9
2.3.4 <i>Analytiske metoder</i> .....	10
<b>3    RESULTATER.....</b>	<b>13</b>
3.1    ENSILERINGSFORSØKENE.....	13
3.1.1 <i>Ensileringsforsøk I</i> .....	13
3.1.2 <i>Ensileringsforsøk II</i> .....	16
3.1.3 <i>Ensileringsforsøk III</i> .....	18
3.2    STABILITET AV LAKSEOLJE FRAMSTILT VED ENSILERING .....	22
3.2.1 <i>Stabilitetsforsøk 1</i> .....	22
3.2.2 <i>Stabilitetsforsøk 2</i> .....	24
3.2.3 <i>Stabilitetsforsøk 3</i> .....	25
3.3    ENSILERINGSFORSØK IV .....	27
3.4    KVALITET AV LAKSEOLJE FRA INDUSTRIELL ENSILERING .....	28
3.5    INDUSTRIELT PRODUSERT RÅENSILASJE FRA EGGESBØNESET .....	30
3.6    FERSKPRESSEDE LAKSEOLJER FRA INDUSTRIELL PRODUKSJON .....	30
<b>4    DISKUSJON .....</b>	<b>33</b>
<b>5    REFERANSER.....</b>	<b>41</b>





# 1 Innledning

Oppdrett av atlantisk laks (*Salmo salar* L.) og regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*) er en næring i sterk vekst. I forbindelse med økt foredling av laks, øker også mengden biprodukter og avskjær. Biprodukter fra hel laksefisk utgjør totalt 35,5 % i en 3-4 kilos laks, hvor filetutbytte er 66 % (Figur 1). I beregningen utgjør hode 11,5 %, rygg med spor 12 % og slo 12% (Olsen & Tobiassen, 2004). I følge statistisk sentralbyrå (2005) ble det i 2005 solgt 641 000 tonn laks og ørret fra norsk havbruksnæring (rund vekt), hvorav laks utgjør 582 000 tonn. Total mengde biprodukter fra laks og ørret produksjon utgjør dermed ca. 230 000 tonn. I følge Bekkevoll og Olafsen (2007) ble ca. 156 000 tonn biprodukter utnyttet fra oppdrett av laks og ørret i 2005. 19 000 tonn gikk til oljeproduksjon (varm eller kaldprosessering), 9 000 tonn gikk til hydrolysat/olje og 114 000 tonn ble ensilert. Av biprodukter som går til ensilering utgjør fett i underkant av 20 % (av slo, hode, rygg), noe som vil tilsvare omlag 22 000 tonn olje. Rundt halvparten av biprodukter fra laks som ensileres, prosesseres av Hordafor AS i Austevoll. Olje fra denne typen produksjon går hovedsakelig til kjemisk/teknisk industri, som for eksempel garving av skinn.



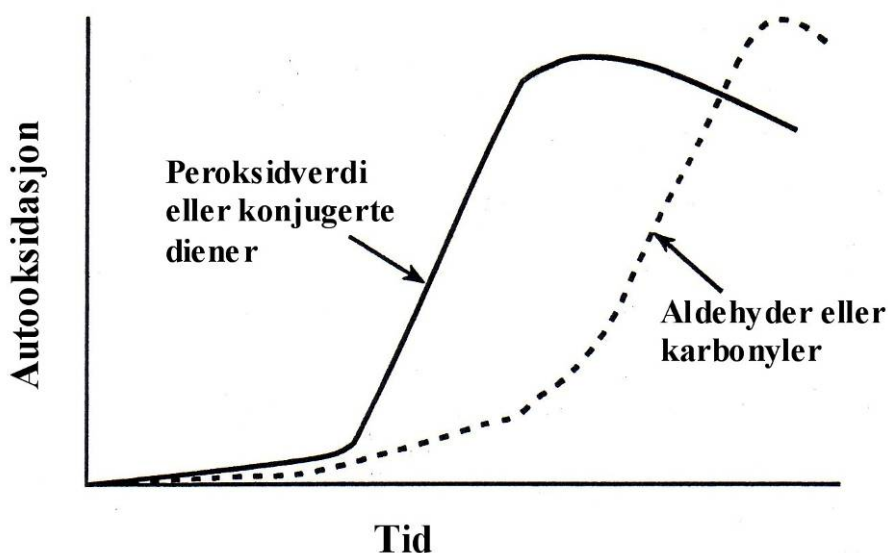
Figur 1 Ulike biprodukter fra 3-4 kilos laks (illustrert av ørret). Hode, rygg med spor, filet trim B og slo angis i prosent av rund vekt (Olsen & Tobiassen, 2004).

Lakseolje har i utgangspunktet et fortrinn i forhold til andre fiskeoljeprodukter med tanke på ferskhet, (god smak) og tiltalende rødfarge, siden råstoffet ikke påvirkes av sesongvariasjoner og er like ferskt året rundt (Rubin, 1997). Fiskeoljer har et naturlig høyt innhold av langkjedede flerumettede fettsyrer. Det er generell enighet i dag om at disse har gunstig helseeffekter på mennesker. En rekke undersøkelser har bekreftet at langkjedede omega-3 fettsyrer kan redusere risiko for hjerte og karsykdommer og andre sykdommer. (oppsummert av Psota et al., 2006). Inntak av oppdrettet feit fisk kan være en viktig kilde for tilstrekkelig inntak av de langkjedede flerumettede fettsyrer. Eicosapentaensyre (20:5n-3) er for eksempel utgangspunktet for fettsyrehormoner som er viktige regulatorer i forhold til allergiske reaksjoner, betennelsesreaksjoner og blodpropp. Omega-3 fettsyrer kan dempe sykdommer der betennelsesreaksjoner er involvert, som for eksempel revmatoid artritt (Calder, 2006). Docosahexaensyre (22:6n-3) er viktig for normal utvikling av hjernen og senere kognitiv utvikling. Tilstrekkelige mengder DHA er derfor nødvendig for normalutvikling av foster under svangerskap og i utvikling av syn (Jensen, 2006).

Flerumettede fettsyrer harskner imidlertid raskere enn enumettede og mettede fettsyrer. Dannelsen av flyktige forbindelser gir karakteristisk harsk lukt og smak. Disse flyktige forbindelsene vil også redusere den ernæringsmessige verdien til mat rik på flerumettet fett. Dette skjer først og fremst ved oksidasjon av fettsyrer, som fører til dannelsen av nedbrytningsprodukter som hydroperoksider og radikaler. Ved kryssbinding med andre komponenter, for eksempel proteiner, kan også fargen i næringsmidlet endres. I tillegg til at mengden omega-3 fettsyrer vil reduseres, så kan proteinkvaliteten også påvirkes negativt. Nedbrytningsprodukter kan binde seg til aminosyren lysin som derved ikke absorberes og utnyttes lenger. Lysin er den essensielle aminosyren som oftest er begrensende i et kosthold eller fôr. Antioksidative vitaminer vil også være redusert i oksiderte produkter.

Autooksidasjon av umettede fettsyrer kan deles i tre faser: initiering (induksjon), propagering (kjedereaksjon) og terminering (avslutning). Induksjon og utvikling av harskning påvirkes av flere faktorer. Cozzolino et al. (2005) har gjort en oppsummering der mengde umettede fettsyrer, type og konsentrasjon av antioksidanter, tilstedeværelse av prooksidanter, tilgang på oksygen, temperatur og tilgang på lys var blant de viktigste faktorene. Det er derfor nødvendig å kvalitetssikre all olje gjennom hele produksjonsprosessen fra råstoff til konsum.

Det fins flere metoder for å måle grad av harskning i olje. Det er mest vanlig å analysere for innhold av primære (hydroperoksider og konjugerte diener) og sekundære (karbonyl- og aldehydforbindelser) oksidasjonsprodukter, henholdsvis peroksid- og anisidinverdi. Disse kjemiske metodene brukes ofte i kombinasjon, for å beregne totoks (anisidinverdi + 2 PV). Figur 2 viser utvikling av primære og sekundære og harskningsprodukter under oksidasjon av olje.



**Figur 2** Utvikling av fettsoyereperoksider målt som peroksidverdi og konjugerte diener og nedbrytning av peroksider målt som aldehyder og karbonyler (ketoner) under oksidasjon av olje (Olsen, 2007).

Det er også vanlig å beregne mengden frie fettsoyrer i en olje. Frie fettsoyrer er blant annet mer utsatt for autooksidasjon enn fettsoyrer forestret i triglyserid og de kan også fungere som prooksidanter (Choe & Min, 2006). I et arbeid utført av Shono og Toyomizu (1971) ble det fastslått at fettsoyresammensetningen også kan brukes til å registrere harskning i fiskeoljer. De registrerte forandringer i fettsoyresammensetninger i homogenisert muskel fra jack mackerel (*Trachus japonicus*) under lagring. De fant at oksidasjon reduserte mengden flerumettede fettsoyrer. Det var reduksjonen av 22:6n-3 som var tydeligst, mens mettede og enumettede fettsoyrer hadde liten reduksjon. Minst var reduksjonen av palmitinsyre (16:0). De konkluderte med at 22:6n-3/16:0 ratio kunne brukes for å bestemme oksidativ harskning av fett fra fisk. Forholdet 22:6n-3/16:0 er også brukt i nyere arbeider for å bekrefte oksidativ harskning. Dulavik et. al. (1998) så på oksidativ stabilitet i lys og mørk muskel hos sei (*Pollachius virens*) under langtids fryselagring av sei ved ulike temperaturer (-10 til -30°C). Skåra et al. (2004) brukte også 22:6n-3 ratio i forhold til oksidasjon av fettsoyrer ved ulike lagrings-temperaturer og atmosfære i olje fra laks.

Den Europeiske Pharmacopoeia (5th edition: [http://www.pheur.org/site/page\\_581.php](http://www.pheur.org/site/page_581.php)) har opparbeidet en standard for mange oljer og gir også kvalitetsspesifikasjoner for olje fra oppdrettet atlantisk laks. Denne gir mal for produksjon, karakter, identifikasjon, analysemetoder (av kvalitetsparametere) og lagring av lakseolje. Blant annet er maksimumsverdier anisidinverdi satt til 10 og peroksidverdi til 5 milliequivalenter peroksid/kg, eventuelt 2,5mmol peroksid per kg olje. Spesifikasjonen setter også krav til fettsyresammensetning og lakseoljen skal ikke inneholde mer enn 11 % linolsyre (18:2n-6). Dette er en fettsyre som bare fins i store mengder i planteoljer. Innholdet av 18:2n-6 i oppdrettet atlantisk laks varierer fra 2-16 % som følge av mengden planteolje i fôret (Fakta om fisk, 2004).

Det er et ønske fra Hordafor å kunne selge olje fra ensilerte biprodukter fra norsk havbruksnæring til det europeiske dyrefôrmarkedet. Begrensningen har vært bruk av antioksidanter og lite dokumenterte kvalitetskriterier. Norske lakseslakteri bruker fremdeles den syntetiske antioksidanten ethoxyquin for å forebygge harskning av fett i ensilasjen. Ethoxyquin er en syntetisk antioksidant, som i følge den Europeiske unionen er tillatt brukt i fôr til produksjonsdyr (som for eksempel oppdrettslaks) og til kjæledyr (med unntak av hund) med en maksimumskonsentrasjon på 150ppm. Syntetiske antioksidanter er mye brukt på grunn av høy effektivitet, lave kostnader og bred tilgjengelighet (Guo et al., 2006). Flere forskningsstudier er gjort i forhold til potensiell økt helserisiko ved inntak av syntetiske antioksidanter (Hocman, 1988; Blaszczyk & Skolimwski, 2005) og Dzanis (1991) har oppsummert helserisiko ved bruk av ethoxyquin i hundemat. Mange eiere av kjæledyr er like mye opptatt av mulige helseskader på dyrene som følge av fôret som de er av mulige helseskader hos mennesker. Oppmerksomheten rundt den potensielle helserisikoen ved bruk av syntetiske antioksidanter har ført til at produsenter av dyrefôr ønsker å redusere bruk av ethoxyquin i sine produkter. Dermed er det naturlig nok et ønske fra produsenter av fôringredienser, å erstatte ethoxyquin med tilsvarende naturlige antioksidanter, for å hindre overføring av antioksidanter fra produksjonsdyr til sluttkonsument. En nylig gjennomført studie viser imidlertid at en porsjon oppdrettslaks (200g) gir lavere estimert daglig inntak (ADI; akseptabelt daglig inntak) enn grenseverdien på 5000ng/kg kroppsvekt som anbefales av verdens helseorganisasjon (Bohne et al., 2006).

Hovedmålet med oppgaven vil være å undersøke kvalitet av olje framstilt ved ensilering av biprodukter fra laks.

Følgende delmål er satt opp:

- Hvordan er effektiviteten av en naturlig antioksidant i forhold til to syntetiske antioksidanter i ensileringsprosessen og i forhold til stabilitet av lakseolje over tid?
- Hvordan er kvalitet av industrielt produsert lakseolje fra ferskpressing kontra kvalitet av lakseolje fra ensilering?
- Hvor mye ethoxyquin inneholder fersk olje fra lakseslo?



## **2 Materialer og Metoder**

Oljer ble laget ved ensilering av lakselo med maursyre. Det ble også benyttet industriprodusert lakseolje fremstilt fra ensilasje og ved ferskpressing. I tillegg ble det mottatt råensilasje fra et kommersielt lakselakteri.

### **2.1 *Ensilering***

Det ble brukt slo fra oppdrettet atlantisk laks, levert fra Troms slakteridrift. Av tre leveranser ble det laget fire partier olje ved ensilering i perioden oktober 2006-januar 2007. Sloet ble prosessert samme dag som laksen var slaktet. Lakselo ble homogeniser i en vanlig kjøkkenkvern (Forniture Sirman), før maursyre (99 % puriss, VWR) og antioksidanter ble tilsatt. Det ble brukt tre ulike antioksidanter: ox-24-8-8, ox-natural (begge fra Perstorp, Nederland) og ethoxyquin. Det ble i tillegg laget en olje uten tilsatt antioksidant (kontroll) på samme måte. Ensilasjen sto i minimum to uker ved romtemperatur før den ble varmet opp i vannbad til 90°C. Temperaturen ble oppnådd etter ca. 40 minutter i kokende vannbad. Oljen ble deretter separert ut ved sentrifugering (1500×g i 10 minutter). Det ble laget fersk lakseolje ved at slo ble homogenisert og direkte sentrifugert som beskrevet ovenfor. Alle oljeprøvene ble lagret ved 4°C.

### **2.2 *Industrielt produserte lakseoljer og råensilasje***

Fem lakseoljer produsert ved industriell ensilering av biprodukter fra laks ble undersøkt i september 2006. Tre lakseoljer var fra Hordafor (Mix, H-oil 9.8.06 og H-oil 23.2.06) mens 2 lakseoljer var fra bedriftene Aquarius og Fipro. Det ble også levert råensilasje fra lakselakteriet til Panfish på Eggesbøneset, merket tank 1, 2, 3.1 og 3.2. Oljen ble separert ut på samme måte som i ensilasjeforsøkene, men i prøven fra tank 2 ble det ikke separert ut olje på grunn av lavt fettinnhold. Det ble også benyttet ferskpresset lakseolje fra Trema prosjekt AS og Lifeline AS. Disse lakseoljene selges som kosttilskudd til hunder. Både oljer og ensilasjeprover ble lagret ved 4°C.

## 2.3 Forsøksoppsett

### 2.3.1 Ensileringsforsøk I-III.

Ensilasje ble produsert som vist i tabell 1. Uttakene ble analysert for peroksidverdi (PV), anisidinverdi (AV), frie fettsyrer (FFA) og fettsyresammensetning (mettede, enumettede, flerumettede; Omega-3 og omega-6). I forbindelse med ensilasjeforsøk III ble et parti varmebehandlet til 90°C før separering (varm), mens det andre partiet (kald) ble separert direkte. Partiet som ble separert direkte (kald), ble analysert for frie fettsyrer og oksidasjonsprodukter.

**Tabell 1 Produksjon av olje ved ensilering av lakseslo, for ensileringsforsøk I-III. Oversikt over syrekonsentrasjon, konsentrasjon av antioksidanter tilsatt i ensilasjen, ensileringstid og lagring av oljer (4°C) etter separering.**

Ensileringsforsøk	I. 9.oktober 2006	II. 31.oktober 2006	III. 25. januar 2007
Syre	2 % maursyre	1.7 % maursyre	1.5 % maursyre
Anti-oksideranter	<ul style="list-style-type: none"><li>- Ethoxyquin, 500ppm.</li><li>- Ox-24-8-8, 500ppm,</li><li>- Ox-natural 1500ppm, 2500ppm</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Ethoxyquin 500ppm,</li><li>- Ox-24-8-8. 500ppm,</li><li>- Ox-natural 2000ppm, 3000ppm,</li><li>- uten antioksidant (kontroll)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Ethoxyquin 500ppm</li><li>- Ox-24-8-8 500ppm</li><li>- Ox-natural 500, 1000, 1500 og 2000ppm</li><li>- Uten antioksidant (kontroll)</li></ul>
Ensileringstid	20 dager	21 dager	15 dager
1. analysering	5 dager etter separering.	15 dager etter separering	3 dager etter separering
2. analysering	12 uker etter separering.	-	-

#### 2.3.1.1 Fersk lakseolje

I forbindelse med ensilasjeforsøk I og III ble det laget ferskpresset lakseolje (fersk). Den ferske lakseoljen ble analysert på samme tidspunkt som olje fra ensilasjeforsøkene. For lakseoljen produsert i forbindelse med ensilasjeforsøk I, ble det foretatt analyser 20 dager og 14 uker etter separering. Denne oljen ble ikke varmebehandlet før separering. Den ferske lakseoljen produsert i forbindelse med ensilasjeforsøk 1, ble også testet for innhold av ethoxyquin av Fiskeriforskning. I fersk lakseolje produsert i forbindelse med ensilasjeforsøk



III, ble det foretatt analyser etter 18 dagers lagring. Denne lakseoljen ble varmebehandlet før separering, på lik linje som for ensilasjeprøvene.

### 2.3.2 Stabilitet av lakseolje framstilt ved ensilering

Provosert oksidasjon av lakseolje ble utført ved inkubasjon i en Innova 4300 rystemaskin ved 45°C og 150 RPM over en periode på 7-22 døgn. Det ble utført 3 stabilitetsforsøk med lakseolje fra ensileringsforsøk I-III. Det ble brukt plastbeger med hull i lokkene under innkubering. Uttakene ble analysert for peroksidverdi.

### 2.3.3 Ensileringsforsøk IV.

Det ble laget 2×6 ensilasjeprøver med syrekonsentrasjon fra 1-3,5 %. Et parti ble varmebehandlet til 90°C før separering (varm), mens det andre partiet (kald) ble separert direkte (Tabell 2). Prøvene ble analysert for frie fettsyrer og oksidasjonsprodukter.

**Tabell 2 Produksjon av olje ved ensilering for ensileringsforsøk IV. Oversikt over syrekonsentrasjon, konsentrasjon av antioksidanter tilsatt i ensilasjen, ensileringstid og lagring av oljer (4°C) etter separering. Det ene partiet (varm) ble oppvarmet til 90°C før separering. Det andre partiet (kald) ble separert direkte.**

Ensilasjeforsøk IV	Varm	Kald
Syrekonsentrasjon	1-3.5 % maursyre	1-3.5 % maursyre
Anti-oksideranter	– Alle seks ensilasjeprøver ble produsert uten antioksidanter.	– Alle seks ensilasjeprøver ble produsert uten antioksidanter.
Ensileringstid	15 dager	15 dager
Varmebehandling	Ja	Nei
Analysering	5 dager etter separering	5 dager etter separering

### 2.3.4 Analytiske metoder

**Peroksidverdi (PV).** 5g lakseolje ble løst i en 30ml løsning av kloroform: eddiksyre (2:3), før tilsetning av 0,5 ml mettet kalium jodid (ph. Eur. VWR). Etter 1 minutt inkubasjon i romtemperatur ble 30ml destillert vann og 5ml stivelseløsning (5 %) tilsatt. Løsningen ble titrert med 0,01 M natrium tiosulfat til omslag fra fiolett til blank. Dersom peroksidverdien oversteg 40mmol peroksid/kg (>20ml 0,01 M natriumtiosulfat), ble det titrert med 0,1 M natriumtiosulfat. En blindprøve ble utført ved samme prosedyre, uten fett (AOCS, 1990a). Analysen ble gjennomført med tre paralleller. Peroxidverdi (mmol peroksid/kg prøve) ble beregnet etter Formel 1.

#### Formel 1 Beregning av peroksidverdi

$$PV = \frac{(S - B)ml \times M(mm\text{ol}/ml) \times 1000(g/kg)}{m(g)} = mm\text{ol hydroperoksid} / kg \text{ fett}$$

S = titrervolum av natrium tiosulfat (ml)

B = titreringsvolum av blindprøven (<0,1ml)

M = molariteten av natriumtiosulfatløsningen (0,01 eller 0,1mmol/ml)

m = oljemengde i gram.

PV uttrykt som meq hydroperoksid/kg = 2×PV mmol hydroperoksid/kg

**Anisidintall (AV).** Lakseolje (0,04-0,1g) ble løst opp til 10 ml med isooktane (Merck KGaA). 2,5ml av prøven ble avlest for egenabsorbans i spektrofotometer v/350nm. Til kyvetten med 2,5ml løsning ble det blandet inn 0,5 ml 0,25 % p-anisidin (Fluka; pract: ≥ 98 % (GC)) løst i eddiksyre. Etter inkubasjon i 10 minutter ved romtemperatur ble absorpsjon etter reaksjon med p-anisidin i eddiksyre lest av i spektrofotometer ved 350nm (AOCS, 1990b). Analysen ble gjennomført med tre paralleller. Mengden aldehyder ble beregnet i følge Formel 2.

#### Formel 2 Beregning av anisidinverdi

$$AV = \frac{10 \times (1,2 \times As - Ab)}{m}$$

As = Absorbering etter reaksjon med p-anisidin i eddiksyre

Ab = Egenabsorbans (<0,5)

m = Oljemengde i g.

**Frie fettsyrer.** 0,1-1g lakseolje ble tilsatt 75 ml kloroform-metanol-isopropanol (2:1:2) og 4 dråper indikator (0,5 % meta-creasolpurpur). Løsningen ble titrering med 0,05 M NaOH fra blank til fiolett løsning. En blindprøve bestående av løsemiddel og indikator ble titrert på samme måte (Ke et al., 1976). Analysen ble gjennomført med tre paralleller. Mengden frie fettsyrer (%) ble beregnet etter Formel 3.

**Formel 3 Beregning av frie fettsyrer (%)**

$$\%FFA = \frac{(pr - bl)ml \times M(mol/l) \times 282(g/mol)}{X(g) \times 1000(ml/l)} \times 100 \%$$

pr = titrervolum av prøven (ml)

bl = titrervolum av blindprøven (<0,2ml)

M = NaOH molaritet (0,05mol/liter)

282 = Molekylvekt til oljesyre (g)

X = Oljemengde (g)

**Fettsyresammensetning.** Lakseolje ble løst i 1:1 kloroform:metanol slik at den inneholdt ca. 10mg fett/ml løsning. Prøvene ble metylert ved at 100ml prøve, 0,9ml kloroform og 2ml 2 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i metanol ble blandet. Løsningene kokte ved 100°C i tette rør i en time (trykkoking). Det ble tilsatt 3,5ml heptan og 3,5ml 5 % NaCl. Heptanfasen ble inndampet til tørrhet med N<sub>2</sub> gass. Metylering ble gjort med modifikasjoner etter Stoffell, Chu og Ahrens (1959). Prøven ble løst i 100µl heptan før metylestere av frie fettsyrer ble analysert i gasskromatograf av typen Agilent Technologies 6890 N utstyrt med Supleco SP-2330 kapillar kolonne (30m × 200µm × 0.20µm). Helium ble brukt som bæregass og fettsyrene ble detektert med en kapillærflammeioniserende detektor (FID). Identifikasjon av individuelle metylestere ble gjort ved sammenligning med kjente standarder. Prosentvis fordeling ble bestemt ved arealprosent av totalarealet. Det ble analysert for 3 mettede fettsyrer (14:0, 16:0 og 18:0), 5 enumattede fettsyrer (16:1n-7, 18:1n-9, 18:1n-7, 20:1n-9 og 22:1n-11) 2 omega-6 fettsyrer (18:2n-6 og 20:4n-6) og 5 omega-3 fettsyrer (18:3n-3, 18:4n-3, 20:5n-3, 22:6n-3). Standardavvik ble beregnet av tre parallelle prøver.



### 3 Resultater

Resultatene presenteres i fire hoveddeler som skissert i forsøksoppsettet. Første del er den mest omfattende hvor kvalitet av lakseolje fra ensileringsforsøk I-III presenteres. I del 2 presenteres resultatene fra provosert oksidasjon av lakseolje (stabilitetsforsøk). I denne bolken er kun lakseolje fra ensileringsforsøk I-III benyttet. I del 3 presenteres ensileringsforsøk IV, hvor det primært ble sett på maursyrekonsentrasjon og mengde frie fettsyrer (%). I siste del presenteres industrielt produsert lakseolje (fra ensilering og ferskpressing) og industrielt produsert råensilasje.

#### 3.1 Ensileringsforsøkene

Det ble utført tre ensilasjeforsøk, hvor det ble produsert 5-8 ulike oljer i hvert forsøk. Resultatene fra hvert ensileringsforsøk presenteres separat.

##### 3.1.1 Ensileringsforsøk I

Det ble benyttet 2 % maursyre i ensilasjen. Ensileringstiden var på 20 dager og kvalitetsanalysene ble utført etter 5 dagers lagring av oljen ved 4°C.

Det ble målt 2 % frie fettsyrer i olje med ox-24-8-8 og fersk lakseolje (Tabell 3). Olje med ox-natural (1500 og 2000ppm) og ox-24-8-8 hadde noe lavere andel frie fettsyrer på 1 %. Den ferskpressede lakseoljen hadde en AV på 0,7 og PV kunne ikke detekteres (ID). Lakseolje med ethoxyquin hadde PV på 0,7 mmol peroksid/kg og en AV på 16. lakseolje med ox-24-8-8 hadde en PV på 1, mens lakseolje med ox-natural 2500 og 1500ppm hadde en PV på henholdsvis 3 og 10 mmol peroksid/kg. Anisidinverdien i lakseoljene fra ensilert råstoff varierte fra 12 (ox-natural 1500ppm) til 28 (ethoxyquin 500ppm).

**Tabell 3** Frie fettsyrer (%), peroksidverdi (mmol peroksid/kg), anisidinverdi og totoks i olje fra ensilasjeforsøk I. Ensilering med 2 % maursyre og ulike antioksidanter pågikk i 20 dager. Oljene ble analysert etter 5 dagers lagring. Fersk olje ble utvunnet direkte fra oppmalt slo.

Egenskaper olje	Lakseolje fra ensileringsforsøk I				Fersk olje
	Ox-natural 1500ppm	Ox-natural 2500ppm	Ethoxyquin 500ppm	Ox-24-8-8 500ppm	
FFA %	1,4	1,2	1,1	2,2	2,0
Peroksidverdi	9,9	2,7	0,7	1,2	ID*
Anisidinverdi	11,6	19,1	27,9	16,1	0,4
Totoks	31,5	26,3	29,4	18,4	-
pH i ensilasjen	3,3	3,3	3,3	3,3	IA*

\* ID: ikke detektert, IA: ikke analysert.

Etter 12 ukers lagring hadde mengden frie fettsyrer økt til 4 % i fersk lakseolje (Tabell 4). For de andre lakseoljene holdt mengden frie fettsyrer seg stabil. Peroksidverdien i fersk lakseolje økte til 1,7 mmol peroksid/kg. Anisidinverdien hadde samme verdi i begge målinger. Lakseolje med ox-natural 2500ppm økte fra 2,7 ved dag 5 til 3,6 mmol peroksid/kg etter 12 ukers lagring. Det ble observert en nedgang i anisidinverdien fra 19 til 13. For lakseolje med ox-natural 1500ppm økte peroksidverdien fra 10 til 27 mmol peroksid/kg. Peroksidverdien i lakseolje med ethoxyquin hadde en økning fra 0,7 til 3,4 mmol peroksid/kg, mens anisidinverdien økte fra 28 til 36. For ox-24-8-8 økte peroksidverdien fra 1,2 til 3,3 mmol peroksid/kg og anisidinverdien økte fra 18 til 31.

**Tabell 4 Frie fettsyrer (%), peroksidverdi (mmol peroksid/kg), anisidinverdi og totoks i olje fra ensilasjeforsøk I. Ensilering med 2 % maursyre og ulike antioksidanter pågikk i 20 dager. Oljene ble analysert etter 12 ukers lagring. Fersk olje ble utvunnet direkte fra oppmalt slo.**

Egenskaper olje	Lakseolje fra ensileringsforsøk I				
	Ox-natural 1500ppm	Ox-natural 2500ppm	Ethoxyquin 500ppm	Ox-24-8-8 500ppm	Fersk
FFA %	1,5	1,7	1,4	2,3	4,0
Peroksidverdi	26,7	3,6	3,4	3,3	1,7
Anisidinverdi	44	13	36	31	0,4
Totoks	97,4	19	43	37	3,8

Lakseoljene fra ensilasjeforsøk I ble analysert for fettsyresammensetning ved gaskromatografi etter 7 dager lagring ved 4°C (Tabell 5). Den ferske laksoljen som ble laget i tilknytning til dette forsøket, inneholdt 24 % mettede fettsyrer, 46 % enumettede fettsyrer og 30 % flerumettede fettsyrer. Omega-6 og omega-3 innholdet var på henholdsvis 8 og 22 %. Lakseoljene fra ensilert råstoff inneholdt fra 24-31 % mettede fettsyrer og fra 38-46 % enumettede fettsyrer. Av flerumettede fettsyrer hadde lakseolje med ox-natural 1500ppm 23 %, hvorav 7 % omega-6 fettsyrer og 16 % omega-3 fettsyrer. Lakseolje med ethoxyquin, ox-natural 2500ppm og ox-24-8-8 inneholdt alle 27 % flerumettede fettsyrer hvorav omega-6 og omega-3 utgjorde henholdsvis 8 og 19 %. Totalt ble 96-99 % av fettsyrene identifisert, hvor ox-24-8-8 hadde lavest mengde identifiserte fettsyrer. Forholdet 22:6n-3/16:0 var på 0,5 for den ferske lakseoljen. Dette forholdet har gått noe ned for de ensilerte lakseoljene, hvor forholdet var på 0,4 for lakseoljer med ethoxyquin, ox-natural 2500ppm og ox-24-8-8, og 0,3 for lakseolje med ox-natural 1500ppm.

**Tabell 5** Prosentvis fordeling av fettsyrer  $\pm$  standardavvik av tre parallelle målinger i oljer fra ensileringsforsøk I. Ensilasjen pågikk i 20 dager og oljene ble analysert etter 5 dagers lagring. Total mengde fettsyrer (%) identifisert og 22:6n-3/16:0 er også inkludert.

Fettsyrer	Fersk	Ethoxyquin	Ox-natural 1500ppm	Ox-natural 2500ppm	Ox-24-8- 8 500ppm
14:0	5,2 $\pm$ 0,2	5,5 $\pm$ 0,9	6,9 $\pm$ 3,6	6,0 $\pm$ 0,8	5,6 $\pm$ 0,4
16:0	15,6 $\pm$ 0,5	15,9 $\pm$ 1,4	19,9 $\pm$ 9,9	17,6 $\pm$ 2,2	16,5 $\pm$ 1,0
18:0	3 $\pm$ 0,0	3 $\pm$ 0,2	3,9 $\pm$ 1,9	3,5 $\pm$ 0,4	3,2 $\pm$ 0,1
$\Sigma$ Mettede	23,7	24,3	30,6	27,2	25,3
16:1n-7	5,5 $\pm$ 0,1	4,7 $\pm$ 0,3	4,1 $\pm$ 2,4	4,7 $\pm$ 0,7	4,7 $\pm$ 0,2
18:1n-9	23,3 $\pm$ 0,1	23,4 $\pm$ 1,2	20,1 $\pm$ 3,9	22,4 $\pm$ 1,1	22,4 $\pm$ 0,3
18:1n-7	3,3 $\pm$ 0,0	3,1 $\pm$ 0,2	2,8 $\pm$ 1,6	3,0 $\pm$ 0,2	3,1 $\pm$ 0,1
20:1n-9	7 $\pm$ 0,1	7,7 $\pm$ 0,5	5,8 $\pm$ 0,8	6,4 $\pm$ 0,5	6,7 $\pm$ 0,3
22:1n-11	6,4 $\pm$ 0,4	7,4 $\pm$ 0,5	5,3 $\pm$ 0,3	5,7 $\pm$ 0,3	6,2 $\pm$ 0,3
$\Sigma$ Enumettede	45,6	46,3	38,1	42,2	43
18:2n-6	6,5 $\pm$ 0,0	6,5 $\pm$ 0,3	5,1 $\pm$ 2,9	5,8 $\pm$ 0,7	5,7 $\pm$ 0,3
20:4n-6	1,7 $\pm$ 0,7	1,9 $\pm$ 0,6	2,0 $\pm$ 1,1	2,1 $\pm$ 0,2	2,1 $\pm$ 0,1
$\Sigma$ Omega-6	8,3	8,4	7	8	7,8
18:3n-3	2 $\pm$ 0,0	2 $\pm$ 0,1	1,4 $\pm$ 0,8	1,6 $\pm$ 0,2	1,7 $\pm$ 0,1
18:4n-3	2,5 $\pm$ 0,0	2,4 $\pm$ 0,1	2,1 $\pm$ 1,2	2,2 $\pm$ 0,1	2,3 $\pm$ 0,1
20:5n-3	6,3 $\pm$ 0,1	5,3 $\pm$ 0,5	4,5 $\pm$ 2,6	5,3 $\pm$ 0,7	5,3 $\pm$ 0,5
22:5n-3	3,2 $\pm$ 0,1	2,6 $\pm$ 0,2	2,4 $\pm$ 1,4	2,8 $\pm$ 0,3	2,7 $\pm$ 0,3
22:6n-3	7,9 $\pm$ 0,3	6,8 $\pm$ 0,6	5,7 $\pm$ 3,3	6,6 $\pm$ 0,9	6,8 $\pm$ 0,7
$\Sigma$ Omega-3	21,8	19,1	16,1	18,5	18,7
$\Sigma$ Flerumettede	30,1	27,5	23,1	26,5	26,5
Totalt	99,4	98,1	96,2	99,4	99,2
22:6n-3/16:0	0,5	0,4	0,3	0,4	0,4

### 3.1.1.1 Ethoxyquin innhold

Ferskpresset olje uten tilsatt antioksidant og olje tilsatt ca. 500ppm ethoxyquin (fra ensileringsforsøk I) ble analysert av Fiskeriforskning. Prøvene viste at ferskpresset lakseolje hadde et ethoxyquin innhold på 0,06ppm, mens olje tilsatt ca 500ppm ethoxyquin hadde et innhold på 600ppm.

### 3.1.2 Ensileringsforsøk II

Det ble benyttet 1,7 % maursyre ved ensilering av slo til produksjon av lakseoljer i ensileringsforsøk II. Ensileringstiden var på 21 dager og lakseoljene ble analysert for frie fettsyrer (%) og oksidasjonsprodukter etter 15 dager lagring ved 4°C. Lakseoljene fra ensilasjeforsøk II hadde et likt innhold av frie fettsyrer på cirka 2 %, med unntak av ox-natural 3000ppm som inneholdt 4 % frie fettsyrer (tabell 6). Kontrollen, lakseolje uten tilsatt antioksidant under ensilering, hadde lavest mengde oksidasjonsprodukter. Det ble målt en PV på 1,4 mmol peroksid/kg og en anisidinverdi på 9. Lakseolje med ox-natural 3000 og 2000ppm hadde lik PV på 13 mmol peroksid/kg og en AV på henholdsvis 28 og 31. Lakseolje med ox-24-8-8 hadde en noe høyere PV på 14 mmol peroksid/kg og en lavere AV på 22. Lakseolje med ethoxyquin hadde en PV på 18,8 mmol peroksid/kg og en AV på 22,4.

**Tabell 6 Frie fettsyrer (%), peroksidverdi (mmol peroksid/kg), anisidinverdi og total oksidasjon i olje fra ensilasjeforsøk II. Ensilering med 1,5 % maursyre og ulike antioksidanter pågikk i 21 dager. Oljene ble analysert etter 15 dagers lagring.**

Egenskaper olje	Lakseolje fra ensileringsforsøk II				
	Kontroll	Ox-natural 3000ppm	Ox-natural 2000ppm	Ox-24-8-8 500ppm	Ethoxyquin 500ppm
FFA %	1,5	4,2	2,1	1,5	1,5
Peroksidverdi	1,4	12,8	13,0	14,3	18,8
Anisidinverdi	9,3	28,4	30,6	21,7	22,4
Totoks	12,1	54,0	56,6	50,2	60,1
pH i ensilasjen	3,1	3,4	3,3	3,1	3,2



Fettsyresammensetningen i lakseoljene fra ensileringsforsøk II, ble analysert etter 14 dagers lagring ved 4°C. Lakseoljene hadde et innhold av mettede fettsyrer fra 22 (kontroll) til 29 % i lakseolje med ethoxyquin (Tabell 7). Innholdet av enumettede fettsyrer varierte fra 39 til 48 %. Mengden flerumettede fettsyrene varierte fra 24 (olje med ethoxyquin) til 29 % (kontroll), hvorav omega-6 fettsyrer utgjorde mellom 7 og 8 %, og omega-3 fettsyrene utgjorde 17 til 21 %. Forholdet 22:6n-3/16:0 var på 0,5 for Kontrollen, 0,4 for begge oljene med ox-natural og 0,3 for olje med ox-24-8-8 og ethoxyquin.

**Tabell 7 Prosentvis fordeling av fettsyrer ± standardavvik av 3 paralleller i oljer fra ensileringsforsøk 2. Ensilasjen pågikk i 21 dager og oljene ble analysert etter 15 dagers lagring. Total mengde fettsyrer (%) identifisert og forholdet 22:6n-3 er også inkludert.**

Fettsyrer	Kontroll	Ox-natural 3000ppm	Ox-natural 2000ppm	Ox-24-8-8	Ethoxyquin 500ppm
14:0	5,2 ± 0,2	5,7 ± 0,3	5,8 ± 1,1	6,5 ± 1,2	6,7 ± 0,4
16:0	14,2 ± 0,0	16,1 ± 0,9	16,5 ± 3,1	18,8 ± 3,4	19,0 ± 1,3
18:0	2,6 ± 0,0	3 ± 0,2	3,1 ± 0,6	3,5 ± 0,6	3,6 ± 0,2
Σ Mettede	22,0	24,8	25,4	28,8	29,4
16:1n-7	5,5 ± 0,2	4,8 ± 0,3	4,9 ± 0,8	4,2 ± 1,1	4,1 ± 0,1
18:1n-9	23,4 ± 0,1	23 ± 0,7	24,7 ± 0,9	20,4 ± 3,8	20,5 ± 0,8
18:1n-7	3,2 ± 0,0	3,1 ± 0,1	3,1 ± 0,2	2,8 ± 0,4	2,8 ± 0,1
20:1n-9	7,5 ± 0,0	7,3 ± 0,1	7,6 ± 0,4	6,5 ± 1,0	5,9 ± 0,2
22:1n-11	8 ± 0,8	6,9 ± 0,2	7,5 ± 0,4	5,5 ± 2,5	5,7 ± 0,2
Σ Enumettede	47,7	45,0	47,8	39,5	38,9
18:2n-6	6,7 ± 0,1	6,7 ± 0,2	7,1 ± 0,7	5,6 ± 1,3	4,9 ± 0,2
20:4n-6	1,1 ± 0,5	1,3 ± 0,1	0,8 ± 1,4	2,7 ± 2,7	2,0 ± 0,0
Σ Omega-6	7,8	8,0	7,9	8,3	6,9
18:3n-3	2,1 ± 0,0	1,9 ± 0,1	0 ± 0,0	2 ± 0,2	1,4 ± 0,1
18:4n-3	2,5 ± 0,0	2,4 ± 0,1	2,6 ± 0,1	2,3 ± 0,3	2,2 ± 0,1
20:5n-3	5,9 ± 0,1	5,3 ± 0,3	5,7 ± 0,8	4,8 ± 1,3	4,7 ± 0,3
22:5n-3	3 ± 0,0	2,7 ± 0,1	2,6 ± 0,4	2,3 ± 0,6	2,5 ± 0,1
22:6n-3	7,7 ± 0,1	6,8 ± 0,3	7,2 ± 1,0	5,9 ± 1,5	5,9 ± 0,3
Σ Omega-3	21,2	19,1	18,1	17,3	16,6
Σ Flerumettede	29,0	27,1	25,9	25,6	23,5
Totalt	98,7	97,0	99,2	93,8	91,8
22:6n-3/16:0	0,5	0,4	0,4	0,3	0,3

### 3.1.3 Ensileringsforsøk III

I ensileringsforsøk III var ensileringstiden på 15 dager og det ble brukt 1,5 % maursyre i ensilasjen. Lakseoljene ble analysert for frie fettsyrer og oksidasjonsprodukter etter 3 dagers lagring ved 4°C. Det ble testet ut fire konsentrasjoner av antioksidanten Ox-natural (500-2000ppm) i tillegg til 500ppm ox-24-8-8, 500ppm ethoxyquin og kontroll. Ensilasjeprovene ble delt i to parti før separering. Et parti ble varmebehandlet til 90°C før separering (varm), mens det andre partiet (kald) ble separert direkte. Det ble også laget en ferskpresset lakseolje i forbindelse med dette forsøket.

I lakseoljene fersk, kontroll og med ox-24-8-8 var mengde frie fettsyrer 4 % (figur 8a). For lakseolje med ethoxyquin var mengden 4,5 %. PV var høyest for fersk lakseolje (3 mmol peroksid/kg). Kontrollen hadde en PV på 1 mmol peroksid/kg og lakseoljene med ox-24-8-8 og ethoxyquin hadde henholdsvis 0,4 og 0,6 mmol peroksid/kg.

**Tabell 8a Frie fettsyrer (%), peroksidverdi (mmol peroksid/kg), anisidinverdi og total oksidasjon i olje fra ensileringsforsøk III. Ensilasjen pågikk i 15 dager og oljene ble analysert etter 3 dagers lagring.**

Egenskaper olje	Lakseolje fra varmebehandlet ensilasje (varm)			
	Fersk	Kontroll	Ox-24-8-8 500ppm	Ethoxyquin 500ppm
FFA	3,8	3,8	4,2	4,5
Peroksidverdi	2,7	2,2	0,4	0,6
Anisidinverdi	1,4	20,6	24,3	8,7
Totoks	7,0	25	25,0	10,0
pH i ensilasjen	6,5*	3,7	3,7	3,7

Egenskaper olje	Lakseolje fra direkte separert ensilasje (kald)			
	Fersk	Kontroll	Ox-24-8-8 500ppm	Ethoxyquin 500ppm
FFA	I.A	5,6	5,8	6,3
Peroksidverdi	I.A	5,8	2,3	1,4
Anisidinverdi	I.A	19,8	21,1	9,8
Totoks	I.A	31,4	25,7	12,6

\*pH ble målt i homogenisert slo, etter oppvarming til 90°C. I.A = ikke analysert

Anisidinverdien var lavest for fersk lakseolje (1,4). For Lakseolje med ethoxyquin var den 9, mens for kontrollen og lakseolje med ox-24-8-8 var den på henholdsvis 23 og 25. Alle oljene fra ensilering hadde en pH=3,7, mens pH målt i ferskt, kvernet slo var på 6,5. I lakseolje fra ensilasjepartiet kald ble det generelt målt høyere mengde frie fettsyrer. Peroksidverdien var høyere i samtlige lakseoljer og anisidinverdien var noe lavere, med unntak av lakseolje med ethoxyquin, hvor anisidinverdien var 9 i olje fra varmebehandlet ensilasje og 10 i olje fra ensilasjepartiet kald.

Mengden frie fettsyrer i lakseoljene med ox-natural med konsentrasjonene 500-1500ppm var på henholdsvis 6, 6,5 og 7 % i ensilasjepartiet kald (tabell 8b). I lakseolje fra varmebehandlet råstoff var mengden frie fettsyrer redusert til 5 % i de samme lakseoljene. For lakseolje med ox-natural 2000ppm var mengden frie fettsyrer 8 % i partiet kald. Mengden frie fettsyrer i lakseolje med 2000ppm ox-natural fra varmebehandlet ensilasje var på 7 %. Generelt var peroksidverdien lavere i olje fra det varmebehandlede ensilasje partiet enn i olje fra ensilasjepartiet kald, med unntak av lakseolje med 1000ppm ox-natural. I denne prøven var peroksidverdien 1,1 mmol peroksid/kg (kald) og 2,4 mmol peroksid i olje fra varmebehandlet ensilasje. Peroxidverdien i lakseolje fra varmebehandlet ensilasje var forholdsvis lik, fra 1- 3 mmol peroksid/kg. Anisidinverdien varierte noe mer for de 4 konsentrasjonene og var på henholdsvis 23 for 500ppm, 25 for 1500ppm og 29 for 1000 og 2000ppm av antioksidanten ox-natural. Anisidinverdien var forholdsvis lik for lakseolje fra ensilasjepartiene kald og varm. Alle ensilasjeprøvene hadde pH < 4.

**Tabell 8b Frie fettsyrer (%), peroksidverdi (mmol peroksid/kg), anisidinverdi og total oksidasjon i olje fra varmebehandlet (varm) og ikke varmebehandlet (kald) ensilasje (ensileringsforsøk III). Ensilering med 1,5% maursyre og ulike antioksidanter pågikk i 15 dager. Oljene ble analysert etter 3 dagers lagring.**

Egenskaper olje	Lakseolje fra varmebehandlet ensilasje (varm)			
	Ox-natural 500ppm	Ox-natural 1000ppm	Ox-natural 1500ppm	Ox-natural 2000ppm
FFA	4,6	4,7	5,3	6,7
Peroxidverdi	2,3	2,4	3,0	1,4
Anisidinverdi	22,8	29,4	25,2	29,0
Totoks	27,4	34,2	31,2	32,0
pH i ensilasjen	3,7	3,7	3,7	3,8
Egenskaper Olje	Lakseolje fra direkte separert ensilasje (kald)			
	Ox-natural 500ppm	Ox-natural 1000ppm	Ox-natural 1500ppm	Ox-natural 2000ppm
FFA	6,2	6,5	7,2	8,4
Peroxidverdi	3,4	1,1	3,6	1,9
Anisidinverdi	24,2	29,8	24,9	29
Totoks	31,0	32,0	32,1	32,5

Fettsyresammensetningen i lakseolje fra ensileringsforsøk III ble analysert etter 14 dagers lagring ved 4°C. Lakseolje fra ensilasjepartiet kald ble ikke analysert for fettsyresammensetning. Mengden mettede fettsyrer i fersk lakseolje, kontroll og lakseolje med ox-24-8-8 og ethoxyquin varierte fra 20 til 22 % (Tabell 9a). Mengde enumettede fettsyrer var mellom 46 til 48 %. Mengden flerumettede var også forholdsvis lik og hadde en variasjon fra 29 til 30 %, hvorav omega-6 og omega-3 fettsyrer utgjorde henholdsvis 9 til 10 % og 19 til 21 %. Mengden identifiserte fettsyrer varierte fra 96 (lakseolje med ethoxyquin)-99 % (lakseolje med Ox-24-8-8). Forholdet 22:6n-3/16:0 var på 0,6 for fersk lakseolje og lakseolje med ox-24-8-8, og 0,5 for kontroll og lakseolje med ethoxyquin.

**Tabell 9a Prosentvis fordeling av fettsyrer ± standardavvik i lakseoljer fra ensileringsforsøk 3; fersk, kontroll og med antioksidantene ox-24-8-8 og ethoxyquin. Ensilasjen pågikk i 15 dager og oljene ble analysert etter 3 dagers lagring. Total mengde fettsyrer (%) identifisert er også inkludert.**

Fettsyrer	Fersk	Kontroll	Ox-24-8-8 500ppm	Ethoxyquin 500ppm
14:0	4,8 ± 0,1	5,3 ± 0,2	4,7 ± 0,0	5,1 ± 0,3
16:0	12,6 ± 0,3	14,0 ± 0,4	12,8 ± 0,1	12,9 ± 0,4
18:0	2,6 ± 0,1	2,8 ± 0,1	2,6 ± 0,0	2,5 ± 0,1
Σ Mettede	20,0	22,1	20,2	20,5
16:1n-7	5,0 ± 0,2	5,1 ± 0,5	5,2 ± 0,1	5,4 ± 0,1
18:1n-9	25,1 ± 0,3	25,4 ± 0,9	25,5 ± 0,2	24,9 ± 1,3
18:1n-7	3,1 ± 0,0	3,1 ± 0,1	3,2 ± 0,0	3,1 ± 0,0
20:1n-9	7,1 ± 0,0	6,8 ± 0,2	7,1 ± 0,1	6,7 ± 0,1
22:1n-11	7,1 ± 0,0	6,8 ± 0,2	7,1 ± 0,1	6,0 ± 0,1
Σ Enumettede	47,5	47,1	48,1	46,1
18:2n-6	7,5 ± 0,1	7,2 ± 0,6	7,5 ± 0,1	7,3 ± 0,1
20:4n-6	2,3 ± 0,0	2,2 ± 0,1	2,3 ± 0,1	2,1 ± 0,1
Σ Omega-6	9,8	9,4	9,8	9,4
18:3n-3	2,5 ± 0,1	2,3 ± 0,2	2,4 ± 0,0	2,4 ± 0,0
18:4n-3	2,3 ± 0,0	2,2 ± 0,1	2,2 ± 0,0	2,1 ± 0,0
20:5n-3	5,4 ± 0,1	5,1 ± 0,4	5,5 ± 0,1	5,3 ± 0,1
22:5n-3	3,2 ± 0,0	2,8 ± 0,1	3,2 ± 0,0	3,0 ± 0,1
22:6n-3	7,3 ± 0,1	6,6 ± 0,3	7,3 ± 0,1	6,8 ± 0,1
Σ Omega-3	20,6	19,1	20,5	19,6
Σ Flerumettede	30,4	28,5	30,3	29,0
Totalt	97,9	97,7	98,6	95,6
22:6n-3/16:0	0,6	0,5	0,6	0,5

Mengden mettede fettsyrer var forholdsvis lik i alle oljene med ox-natural 500-2000ppm og lå på 20-21 % (tabell 9b). Det samme gjaldt for enumettede fettsyrer med en liten variasjon mellom 47-50 %. Mengden flerumettede fettsyrer lå mellom 28-31 %, hvorav omega-6 og omega-3 fettsyre var mellom henholdsvis 9-10 % og 19-20 %. Forholdet 22:6n-3/16:0 var på 0,5 for ox-natural 500 og 1000ppm og 0,6 for ox-natural 1500 og 2000ppm. Total mengde fettsyrer som ble identifisert var høyest for ox-natural 1000ppm (99 %). For ox-natural 2000ppm var den på 98 %. For konsentrasjonene 500 og 1500ppm var mengden identifiserte fettsyrer på henholdsvis 96 og 95 %.

**Tabell 9b Prosentvis fordeling av fettsyrer  $\pm$  standardavvik av lakseolje fra ensilasjeforsøk III med fire konsentrasjoner av antioksidanten ox-natural. Ensilasjen pågikk i 15 dager og oljene ble analysert etter 3 dagers lagring. Total mengde fettsyrer (%) identifisert og forholdet 22:6n-3/16:0 er også inkludert.**

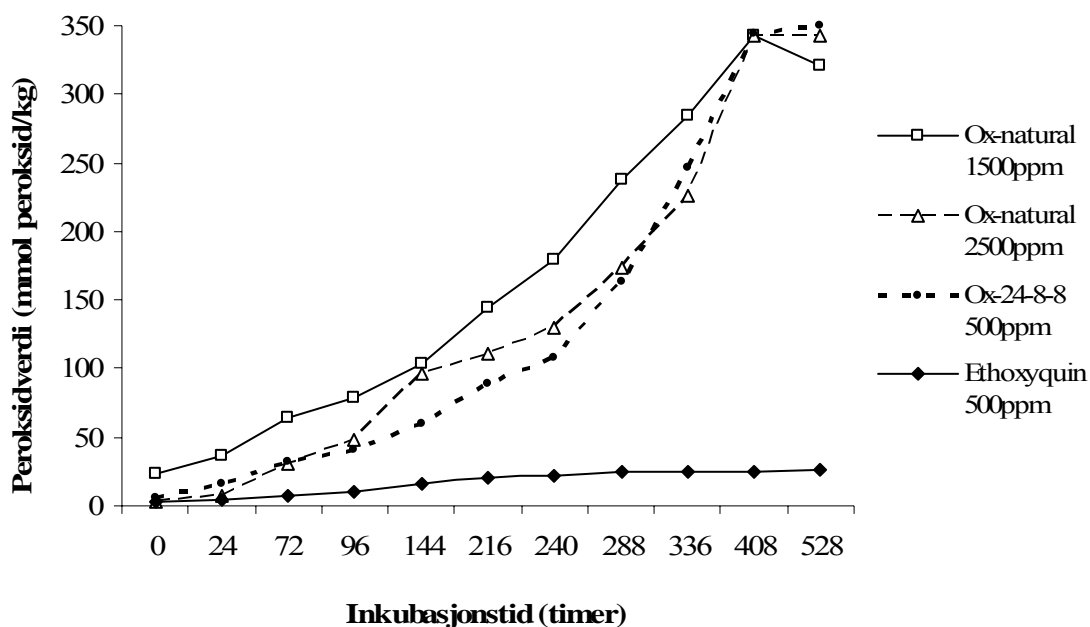
Fettsyrer	Ox-natural 500ppm	Ox-natural 1000ppm	Ox-natural 1500ppm	Ox-natural 2000ppm
14:0	5,0 $\pm$ 0,5	4,6 $\pm$ 0,4	4,6 $\pm$ 0,2	4,6 $\pm$ 0,0
16:0	12,9 $\pm$ 0,9	12,5 $\pm$ 0,3	12,4 $\pm$ 0,3	12,4 $\pm$ 0,1
18:0	2,7 $\pm$ 0,1	2,7 $\pm$ 0,2	2,0 $\pm$ 1,1	2,6 $\pm$ 0,0
$\Sigma$ Mettede	20,6	19,8	18,9	19,5
16:1n-7	4,9 $\pm$ 0,5	5,5 $\pm$ 0,1	5,1 $\pm$ 0,2	5,2 $\pm$ 0,1
18:1n-9	24,9 $\pm$ 0,8	27,0 $\pm$ 1,4	25,1 $\pm$ 0,3	25,6 $\pm$ 0,1
18:1n-7	3,1 $\pm$ 0,2	3,3 $\pm$ 0,1	3,1 $\pm$ 0,0	3,2 $\pm$ 0,0
20:1n-9	6,9 $\pm$ 0,5	6,9 $\pm$ 0,2	6,8 $\pm$ 0,1	7,0 $\pm$ 0,0
22:1n-11	6,9 $\pm$ 0,5	6,9 $\pm$ 0,2	6,8 $\pm$ 0,1	7,0 $\pm$ 0,0
$\Sigma$ Enumettede	46,8	49,7	46,9	48,0
18:2n-6	7,1 $\pm$ 0,5	7,7 $\pm$ 0,1	7,6 $\pm$ 0,1	7,8 $\pm$ 0,1
20:4n-6	2,2 $\pm$ 0,2	2,2 $\pm$ 0,1	2,1 $\pm$ 0,0	2,3 $\pm$ 0,0
$\Sigma$ Omega-6	9,3	9,9	9,7	10,1
18:3n-3	2,3 $\pm$ 0,2	2,5 $\pm$ 0,0	1,9 $\pm$ 1,1	2,5 $\pm$ 0,0
18:4n-3	2,2 $\pm$ 0,1	2,2 $\pm$ 0,0	2,2 $\pm$ 0,0	2,2 $\pm$ 0,0
20:5n-3	5,0 $\pm$ 0,5	5,4 $\pm$ 0,1	5,3 $\pm$ 0,1	5,5 $\pm$ 0,0
22:5n-3	3,0 $\pm$ 0,3	3,0 $\pm$ 0,1	3,0 $\pm$ 0,1	3,1 $\pm$ 0,0
22:6n-3	6,7 $\pm$ 0,6	6,8 $\pm$ 0,2	6,8 $\pm$ 0,1	7,1 $\pm$ 0,1
$\Sigma$ Omega-3	19,1	19,8	19,2	20,4
$\Sigma$ Flerumettede	28,4	29,8	28,8	30,5
Totalt	95,7	99,2	94,7	98,0
22:6n-3/16:0	0,5	0,5	0,6	0,6

### 3.2 Stabilitet av lakseolje framstilt ved ensilering

Det ble utført 3 stabilitetsforsøk med provosert oksidasjon av lakseolje ved inkubasjon i en Innova 4300 rystemaskin ved 45°C og 150 RPM over en periode på 7-22 døgn.

#### 3.2.1 Stabilitetsforsøk 1

I stabilitetsforsøk 1 ble det benyttet lakseolje fra ensilasjeforsøk I. Lakseoljen var lagret i 19 uker ved 4°C før den ble satt til innkubering i ristemaskinen. Forsøket gikk over en periode på 22 døgn, hvor det ble foretatt 11 uttak som ble analysert for peroksidverdi. Figur 3 viser forskjellene i stabilitet hos lakseoljer med ulike antioksidanter.



Figur 3 Peroxidverdi (mmol peroksid/kg) målt i olje fra ensileringsforsøk 1 over en periode på 22 døgn (528 timer).

Olje med ethoxyquin har en lav peroksidverdi gjennom hele forsøket, selv om den økte fra 3,4 til 26 mmol peroksid i løpet av perioden på 22 dager. Oljen ble mørkere på farge i løpet av forsøket, og ved endt forsøk hadde denne oljen en brunaktig farge. Oljen forble forholdsvis tynnflytende. For oljene med ox-natural (1500 og 2000ppm) og ox-24-8-8 er det en jevn stigning i peroksidverdi gjennom hele forsøket. Lakseolje med ox-natural 1500ppm hadde en økning fra 24-342 mmol peroksid/kg ved 408 timer (dag 21). Ved siste uttak ble det målt en

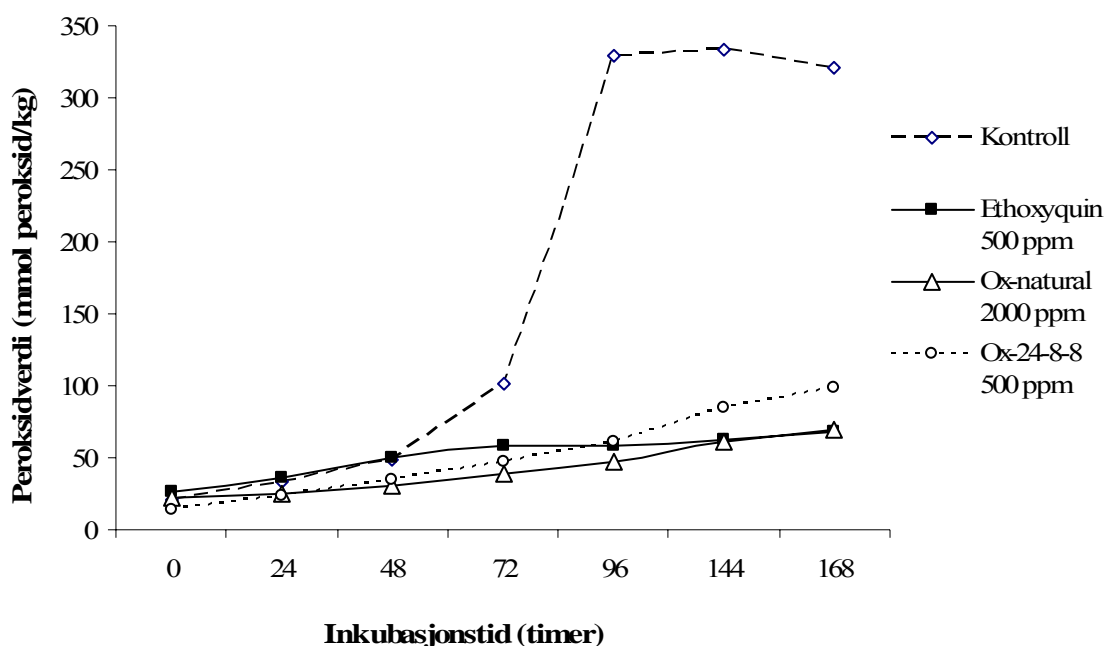
PV på 321 mmol/peroksid/kg. For lakseolje med ox-natural var peroksidverdien på 3,2 mmol peroksid/kg ved tid 0 og økte til 343 mmol peroksid/kg ved 408 timer (dag 21). Ved siste uttak var peroksidverdien stagnert og det ble målt 343 mmol peroksid/kg også her. Ox-24-8-8 hadde lignende stigning. Peroksidverdien var på 5 mmol peroksid ved tid 0 og økte til 349 ved siste måling (dag 22). Også for denne oljen begynte PV å stagnere, og det var bare en stigning på 5 mmol peroksid/kg det siste døgnet av innkubering. Alle disse oljene (med unntak av ethoxyquin) ble lysere på farge og fikk ved endt forsøk en strågul farge og en seig (sirupaktig) konsistens. Bilde 1 viser fargen på lakseolje etter 24t inkubasjon og 288t inkubasjon. Olje med ethoxyquin var blitt noe mørkere på farge, mens begge lakseoljer med ox-natural og ox-24-8-8 hadde fått en mye lysere farge. Lysest var lakseolje med ox-natural 1500ppm.



**Bilde 1** Endring av farge i lakseoljer fra ensileringsforsøk I etter henholdsvis 24t inkubasjon (til venstre) og 288t inkubasjon (til høyre).

### 3.2.2 Stabilitetsforsøk 2

I stabilitetsforsøk 2, ble det benyttet olje fra ensilasjeforsøk II. Det ble benyttet lakseolje uten antioksidant (kontroll) og lakseolje med henholdsvis 500ppm ethoxyquin, 2000ppm ox-natural og 500ppm ox-24-8-8. Lakseoljene var lagret i 13 uker ved 4°C før de ble satt til innkubering i ristemaskinen. Forsøket gikk over en periode på syv dager hvor det ble foretatt 7 uttak. Uttakene ble analysert for peroksidverdi (figur 4).



Figur 4 Peroxidverdi (mmol peroksid/kg) målt i olje fra ensileringsforsøk 1 over en periode på 7 døgn.

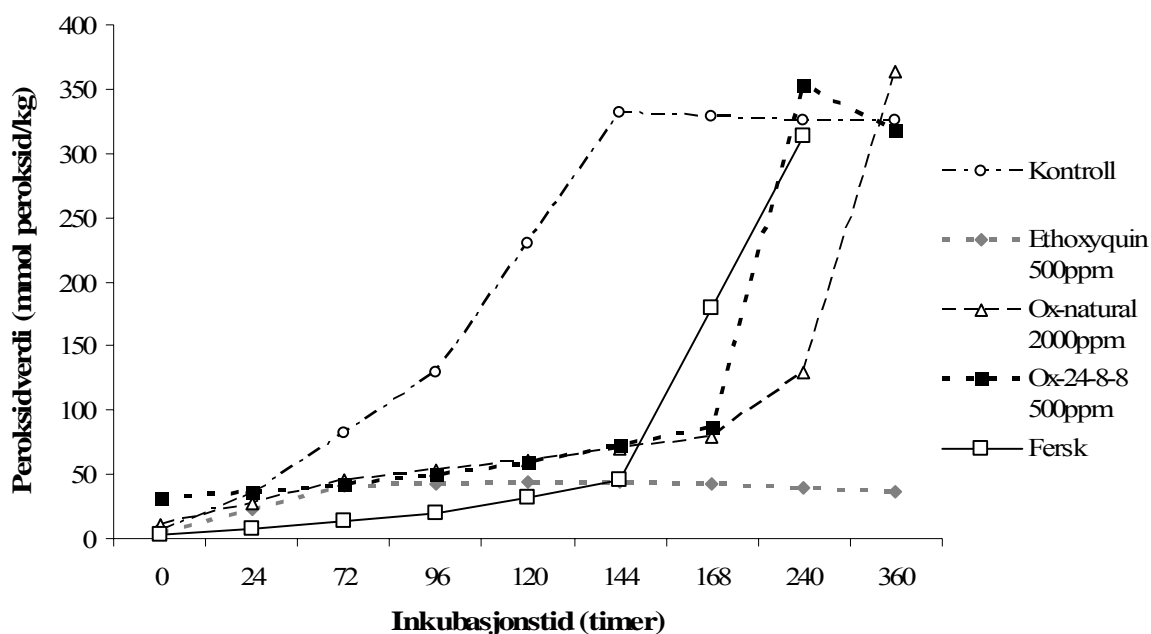
Peroxidverdien i kontrollen steg raskt i forhold til oljene med tilsatt antioksidant. Kontrollen hadde ved forsøkets start en peroksidverdi på 21 mmol peroksid/kg. Denne oljen nådde toppen etter 144 timer hvor det ble målt en peroksidverdi på 334 mmol peroksid/kg. Ved siste måling var PV redusert til 320 mmol peroksid/kg. PV i oljen med ox-24-8-8, så ut til å øke litt raskere enn olje med ox-natural og ethoxyquin. Denne lakseoljen hadde den laveste peroksidverdien ved forsøkets start på 15 mmol peroksid/kg, etter 168 timer (7 døgn) ble det målt en PV på 99 mmol peroksid/kg. Lakseolje med ethoxyquin hadde den høyeste peroksidverdien ved tid 0. I løpet av 7 dagers inkubasjon økte denne fra 27 til 68 mmol peroksid/kg, som ved dette tidspunktet var den laveste peroksidverdien. Lakseolje med ox-natural 2000ppm startet med en PV på 22 mmol peroksid/kg og hadde ved forsøket slutt



(168t) en peroksidverdi på 70 mmol peroksid/kg. Alle oljer med antioksidant hadde mye lavere PV enn hva som var tilfelle for kontrollen. Også i dette forsøket hadde olje tilsatt ethoxiquin en mørkere farge enn de andre oljene, som ble lysere på farge ved økt peroksidverdi.

### 3.2.3 Stabilitetsforsøk 3

I stabilitetsforsøk 3 ble det benyttet olje fra ensilasjeforsøk III. Oljene var lagret i 3 uker ved 4°C før de ble satt til innkubering i ristemaskin. I dette forsøket ble det også brukt ferskpresset olje, produsert i forbindelse med samme ensileringsforsøk. Forsøket gikk over en periode på 15 dager (360t). Det ble foretatt 9 uttak som ble analysert for peroksidverdi (figur 5).



Figur 5 Peroxidverdi (mmol peroksid/kg) målt i olje fra ensileringsforsøk 1 over en periode på 15 døgn.

Peroxidverdien til kontrollen økte jevnt til 96 timer fra 6-129 mmol peroksid/kg. Etter dette steg PV raskere, inntil den stagnerte på 331 mmol peroksid/kg etter 144t inkubasjon. Etter dette var det en liten reduksjon i peroksidverdi og ved siste uttak var PV på 325 mmol peroksid/kg. For de andre oljene var peroksidverdien forholdsvis stabil inntil 144 timer. Ved dette punktet økte peroksidverdien voldsomt for fersk olje det neste døgnet fra 45 til 180 mmol peroksid/kg. Siste måling for fersk lakseolje var ved 240t, hvor PV var 314 mmol peroksid/kg. Lakseolje med ox-24-8-8 og ox-natural hadde en voldsom økning etter

henholdsvis 168 og 240 timer. Lakseolje med ox-24-8-8 nådde toppen ved 240t og det ble målt en PV på 352 mmol peroksid/kg. Ved siste måling var denne gått ned til 318 mmol peroksid/kg. Lakseolje med ethoxyquin hadde en PV på 4 mmol peroksid ved tid 0. Peroksidverdien steg litt men stagnerte allerede ved 96t hvor den var på 40 mmol peroksid/kg. Etter dette steg PV til 44 mmol peroksid/kg (120t), hvorpå den gikk litt ned ved de to siste uttakene og det ble målt henholdsvis 39 og 37 mmol peroksid/kg. Fargen på oljen var ved dette tidspunktet mørk som observert i de to forutgående forsøkene, men oljen hadde fremdeles en flytende konsistens.

I forbindelse med stabiliseringsforsøk 3, ble det i tillegg til peroksidverdi, målt anisidinverdi i to lakseoljer; fersk og kontroll (tabell 10). Anisidinverdien ble målt i 6 av 9 uttak. Den ferske oljen holdt seg stabil i en mye lengre periode enn kontrollen. Allerede ved første måling (tid 0), hadde kontrollen en høy anisidinverdi på 24, mens peroksidverdien var ca. 6 mmol peroksid/kg (Tabell 12). Den ferske oljen oversteg ikke denne anisidinverdi før etter 144 timers innkubering, men da var peroksidverdien 103mmol peroksid/kg og anisidinverdien var 54.

**Tabell 10 Peroksidverdi, angitt i mmol peroksid/kg og anisidinverdi i fersk lakseolje og kontroll fra ensilasjeforsøk III.**

Tid (timer) ved inkubasjon	Egenskaper, fersk og ensilert lakseolje			
	Fersk lakseolje		Ensilasjeolje (kontroll)	
	PV	AV	PV	AV
0	2,8	2,4	5,6	23,5
24	7,5	3,6	34,4	34,3
96	19,2	5,9	129,2	78,9
120	45,1	15,6	331,3	U. D*
144	103,0	54,0	319,0	U. D*
216	313,9	U. D*	324,8	U. D*

\*U. D utenfor deteksjonsområdet: Avlesning i spektrofotometer > 1.

### 3.3 Ensileringsforsøk IV

Det ble laget oljer ved ensilering med 6 konsentrasjoner maursyre (1-3,5 %). Ensileringstiden var 15 dager og oljen ble analysert etter tre dagers lagring ved 4°C. Olje ble separert ut i to partier, med opprinnelse fra samme ensilasjeprobe. Det ene partiet ble varmebehandlet (varm) før separering til 90°C. Det andre partiet ble separert direkte (kald). Lakseoljene fra ensileringsforsøk IV ble analysert for frie fettsyrer (%) og oksidasjonsprodukter (tabell 11).

Alle oljene fra det varmebehandlede partiet hadde lavere andel frie fettsyrer (3-9 %) enn oljen fra ensilasje som ble separert direkte (4-11 %). Olje fra ensilasje tilsatt 1 % maursyre hadde høyere andel frie fettsyrer (9 % for varm og 11 % for kald) enn olje fra ensilasje med økt syreinnhold. Utover dette var det ingen markante forskjeller i mengden frie fettsyrer (%). Ensilert med 1,5 til 3,5 % maursyre, var andelen frie fettsyrer 3 til 4 % og 4 til 6 % i oljer fra henholdsvis varmebehandlet og ikke varmebehandlet ensilasje.

**Tabell 11 pH i ensilasjen målt ved ensileringsdag 1 og 15 og frie fettsyrer (%) i olje fra varmebehandlet (varm) og ikke varmebehandlet (kald) ensilasje (ensileringsforsøk IV). Ensilasjeprobene var lagd med syrekonsentrasjon fra 1-3,5 %. Ensilasjen pågikk i 15 dager og oljene ble analysert etter 3 dagers lagring.**

Egenskaper ensilasje	Maursyrekonsentrasjon i ensilasjen					
	1 %	1,5 %	2 %	2,5 %	3 %	3,5 %
pH i ensilasjen dag 1	3,6	3,2	3	2,9	2,8	2,7
pH i ensilasjen dag 15	3,9	3,6	3,5	3,4	3,3	3,2
<hr/>						
Egenskaper olje (varm)	1 %	1,5 %	2 %	2,5 %	3 %	3,5 %
FFA	11,1	5,6	4,1	4,6	4,6	5,1
Peroksidverdi	1,8	2,2	1,7	2,7	2,6	3,3
Anisidinverdi	22,9	20,6	27,2	16	22,2	13,1
Totoks	26,5	25	30,6	21,1	27,4	19,7
<hr/>						
Egenskaper olje (kald)	1 %	1,5 %	2 %	2,5 %	3 %	3,5 %
FFA	9,4	3,8	2,8	3,3	3,4	3,7
Peroksidverdi	5,6	5,8	3,7	4,5	4,4	4,1
Anisidinverdi	20,3	19,8	22,7	14,9	22,3	14,9
Totoks	31,5	31,4	30,1	23,9	31,1	23,1

Olje fra ensilasjeforsøk IV ble også analysert for peroksidverdi og anisidinverdi. Lakseolje fra varmebehandlet ensilasje (varm), hadde PV fra 2-3 mmol peroksid/kg. Anisidinverdien i disse lakseoljene varierte fra 13- 27. Lakseolje fra ikke varmebehandlet ensilasje (kald) hadde en noe høyere PV enn lakseolje fra varmebehandlet råstoff, og lå fra 4-6 mmol peroksid/kg. Anisidinverdien varierte noe mindre i lakseoljene fra partiet kald enn i oljer fra varmebehandlet ensilasje, og var mellom 15-23.

### 3.4 Kvalitet av lakseolje fra industriell ensilering

Fem lakseoljer produsert ved industriell ensilering ble analysert for frie fettsyrer og oksidasjonsprodukter. Tre lakseoljer fra Hordafor (Mix, H-oil 9.8.06 og H-oil 23.2.06) og 2 lakseoljer fra bedriftene Fipro og Aquarius ble undersøkt. I lakseoljene som ble undersøkt var prosent frie fettsyrer ganske lik i alle prøver, fra 1 til 2 %, med unntak av oljen fra Aquarius som hadde 4 % frie fettsyrer (tabell 12).

**Tabell 12 Frie fettsyrer (%), peroksidverdi (mmol peroksid/kg), anisidinverdi og total oksidasjon i oljer fra Hordafor (Mix, H-oil 9.8.06 og H-oil 23.2.06), Fipro og Aquarius.**

Oljeprøver fra		H-oil	H-oil		
Hordafor AS	Mix	9.8.06	23.2.06	Fipro	Aquarius
FFA %	2,0	2,2	1,6	1,1	3,9
Peroksidverdi	5,5	7,8	14,1	22,7	9,9
Anisidinverdi	30,4	36,7	43,1	22	34,4
Totoks	41,4	52,3	71,4	67,3	54,2

Peroksidverdien i oljene fra Hordafor varierte fra 5,5 (Mix) til 14 mmol peroksid/kg (H-oil 23.2.06). For lakseoljene fra Fipro og Aquarius var PV på henholdsvis 23 og 10 mmol peroksid/kg. Anisidinverdien i oljen fra Fipro var på 22 % og den laveste målte verdien i dette forsøket. H-oil 9.8.06 hadde høyest anisidinverdi på 34, mens for oljene Mix, H-oil 9.8.06 og Aquarius var anisidinverdien forholdsvis lik på henholdsvis 30, 37 og 34.

Fettsyresammensetningen i de industriproduserte lakseoljene fra ensilert råstoff, ble analysert ved gasskromatografi ved samme tidspunkt som for analysering av frie fettsyrer (%) og oksidasjonsprodukter (tabell 13).

**Tabell 13 Prosentvis fordeling av fettsyrer  $\pm$  standardavvik fra tre parallelle målinger i kommersielle lakseoljer fra ensilert råstoff. Total mengde fettsyrer (%) identifisert og forholdet 16:0/22:6n-3 er også inkludert.**

Fettsyrer	Mix	H-oil 9.8.06	H-oil, 23.2.06	Fipro	Aquarius
14:0	6,1 $\pm$ 0,5	5,4 $\pm$ 0,1	5,4 $\pm$ 0,4	6,3 $\pm$ 0,5	8,4 $\pm$ 1,5
16:0	17,4 $\pm$ 1,4	15,9 $\pm$ 0,4	16 $\pm$ 0,3	19,5 $\pm$ 1,3	25,1 $\pm$ 4,6
18:0	3,6 $\pm$ 0,3	3,5 $\pm$ 0,1	3,6 $\pm$ 0,1	4,4 $\pm$ 0,4	5,5 $\pm$ 1,0
$\Sigma$ Mettede	27,1	24,7	25,0	30,2	38,9
16:1n-7	6,3 $\pm$ 0,1	5,4 $\pm$ 0,0	5,8 $\pm$ 0,8	5,4 $\pm$ 0,2	3,4 $\pm$ 0,8
18:1n-9	24,2 $\pm$ 0,5	27,2 $\pm$ 0,2	26,6 $\pm$ 0,2	27,1 $\pm$ 0,5	23,4 $\pm$ 3,8
18:1n-7	3,5 $\pm$ 0,1	3,4 $\pm$ 0,0	3,5 $\pm$ 0,4	3,6 $\pm$ 0,3	2,9 $\pm$ 0,3
20:1n-9	0,4 $\pm$ 0,4	0,7 $\pm$ 0,0	0,6 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,3
22:1n-11	3,9 $\pm$ 2,9	4,9 $\pm$ 0,0	4,4 $\pm$ 0,0	4,7 $\pm$ 0,0	4,8 $\pm$ 0,4
$\Sigma$ Enumettede	38,3	41,6	40,9	41,5	34,8
18:2n-6	6,6 $\pm$ 0,2	7,9 $\pm$ 0,0	7,7 $\pm$ 0,1	7,0 $\pm$ 0,3	6,0 $\pm$ 1,3
20:4n-6	2,0 $\pm$ 3,1	0,3 $\pm$ 0,3	0,5 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,4	0,7 $\pm$ 1,4
$\Sigma$ Omega-6	8,6	8,2	8,2	7,0	6,7
18:3n-3	2,0 $\pm$ 0,2	2,5 $\pm$ 0,0	2,4 $\pm$ 0,2	2,1 $\pm$ 0,2	1,8 $\pm$ 0,5
18:4n-3	7,1 $\pm$ 0,1	6,5 $\pm$ 0,0	6,0 $\pm$ 0,1	6,6 $\pm$ 0,7	5,3 $\pm$ 0,9
20:5n-3	5,6 $\pm$ 0,9	5,1 $\pm$ 0,2	5,5 $\pm$ 0,1	4,0 $\pm$ 0,5	2,9 $\pm$ 0,8
22:5n-3	2,6 $\pm$ 0,4	2,5 $\pm$ 0,1	2,5 $\pm$ 0,6	1,6 $\pm$ 0,3	1,6 $\pm$ 0,3
22:6n-3	7,6 $\pm$ 1,6	7,0 $\pm$ 0,3	7,3 $\pm$ 0,3	4,6 $\pm$ 0,7	3,8 $\pm$ 1,0
$\Sigma$ Omega-3	25,0	23,6	23,7	19,0	15,4
$\Sigma$ Flerumettede	33,6	31,8	31,9	26,0	22,1
Totalt	99,0	98,2	97,7	97,6	95,8
22:6n-3/16:0	0,4	0,4	0,5	0,2	0,2

Prosentvis fordeling av mettede fettsyrer ligger mellom 25 til 39 %. Lakseoljen fra Aquarius skiller seg noe ut med et innhold på 39 % mettede fettsyrer. Av enumettede fettsyrer er også den prosentvise fordelingen nokså lik, fra 35 til 42 %, men også her skiller lakseoljen fra Aquarius seg ut med 35 % enumettede fettsyrer. I forhold til omega-6 fettsyrene er det ikke stor variasjon mellom lakseoljene (7 til 9 %). Når det gjelder omega-3 fettsyrene, er det forholdsvis stor variasjon. Lakseoljene fra Hordafor har forholdsvis lik prosentandel omega-3 fettsyrer fra 24 til 25 %. Lakseoljene fra Fipro og Aquarius ligger noe lavere, med henholdsvis 19 og 15 %. Total mengde fettsyrer som ble identifisert ligger på 96-99 %, hvor lakseolje fra Aquarius har lavest andel identifiserte fettsyrer.

### 3.5 Industrielt produsert råensilasje fra eggesbøneset

Det ble også mottatt råensilasje fra Panfish sitt anlegg på Eggesbøneset. Lakseolje ble separert ut fra råensilasjen ved sentrifugering. De tre lakseoljene fra råensilasjen hadde fra 0,5 til 0,9 % frie fettsyrer (Tabell 14). Peroksidverdien i oljen fra ensilasjeprøvene var på 3 til 4 mmol peroksid/kg. Anisidinverdien i lakseolje fra tank 3.1 og 3.2 var på 2, mens den var 7 for lakseolje fra tank 1. Ensilasjeprøvene hadde en pH på ca. 3,5.

**Tabell 14 Frie fettsyrer (%), anisidinverdi, Peroksidverdi (mmol peroksid/kg) og totoks i olje fra råensilasje, Eggesbøneset, samt pH målt i ensilasjen.**

Egenskaper olje	Ensilasjeprøver		
	Tank 1	Tank 3.1	Tank 3.2
FFA %	0,9	0,5	0,6
Peroksidverdi	4,2	3,7	3,3
Anisidinverdi	6,7	2	2,2
Totoks	15,1	9,4	8,8
pH i ensilasjen	3,6	3,4	3,4

### 3.6 Ferskpressede lakseoljer fra industriell produksjon

De ferskpressede lakseoljer fra bedriftene Lifeline og Trema prosjekt er beregnet som kosttilskudd til hunder. Lakseoljen fra Lifeline innehold 0,4 % frie fettsyrer, mens lakseolje fra trema prosjekt, lå på 1,6 % (Tabell 15). Lakseoljen fra Lifeline og Trema prosjekt hadde en peroksidverdi på henholdsvis 2,5 og 5,4 mmol peroksid/kg. Anisidinverdien i lakseolje til Lifeline var på 1 og lavere enn for lakseoljen til Trema prosjekt som hadde en AV på 12.

**Tabell 15 Frie fettsyrer (%), anisidinverdi, Peroksidverdi (mmol peroksid/kg) og totoks i olje ferskpresset olje fra Trema prosjekt og Lifeline.**

Egenskaper olje	Lakseoljer	
	Lifeline	Trema prosjekt
FFA %	0,4	1,6
Peroksidverdi	2,5	5,4
Anisidinverdi	1,1	12
Totoks	6,1	22,8

Fettsyresammensetningen i lakseoljene fra Lifeline og Trema prosjekt var forholdsvis lik. Mettede fettsyrer var på henholdsvis 19 og 21 % (Tabell 16). Lakseoljen fra Lifeline hadde en noe høyere andel enumettede fettsyrer på 46 %, mens oljen fra Trema prosjekt hadde 42 %. I forhold til de flerumettede fettsyrene innholdet lakseolje fra Lifeline og Trema prosjekt henholdsvis 10 og 12 % omega-6 og 21 og 22 % omega-3 fettsyrer.

**Tabell 16 Prosentvis fordeling av fettsyrer  $\pm$  standardavvik av tre parallelle målinger i oljer fra ferskpressede lakseoljer fra industriell produksjon. Total mengde fettsyrer (%) identifisert er også inkludert.**

Fettsyrer	Lifeline	Trema prosjekt
14:0	$3,9 \pm 0,2$	$3,7 \pm 0,0$
16:0	$12,0 \pm 0,4$	$13,7 \pm 0,1$
18:0	$2,8 \pm 0,1$	$3,1 \pm 0,0$
$\Sigma$ Mettede	18,7	20,5
16:1n-7	$4,1 \pm 0,1$	$4,7 \pm 0,0$
18:1n-9	$30,2 \pm 0,3$	$28,4 \pm 0,2$
18:1n-7	$3,1 \pm 0,0$	$3,1 \pm 0,0$
20:1n-9	$4,6 \pm 0,0$	$3,7 \pm 0,2$
22:1n-11	$3,7 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,1$
$\Sigma$ Enumettede	45,7	42,3
18:2n-6	$9,4 \pm 0,2$	$11,2 \pm 0,2$
20:4n-6	$0,4 \pm 0,4$	$0,5 \pm 0,0$
$\Sigma$ Omega-6	9,8	11,7
18:3n-3	$3,8 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,1$
18:4n-3	$1,5 \pm 0,1$	$1,5 \pm 0,0$
20:5n-3	$5,2 \pm 0,1$	$6,0 \pm 0,0$
22:5n-3	$2,6 \pm 0,1$	$2,7 \pm 0,0$
22:6n-3	$7,6 \pm 0,3$	$8,2 \pm 0,1$
$\Sigma$ Omega-3	20,7	21,6
$\Sigma$ Flerumettede	30,5	33,3
Totalt	94,9	96,1
22:6n-3/16:0	0,6	0,6





## 4 Diskusjon

Marine oljer har et høyt innhold av helsefremmende flerumettede omega-3 fettsyrer. Disse fettsyrene oksiderer imidlertid svært lett og dette gir opphav til ubehagelig (harsk) lukt og smak. Dette gjelder i høy grad også for lakseolje framstilt ved ensilering. Ensilasjeprosessen varer normalt i 14 dager. I denne perioden skjer det en jevnlig omrøring for å oppnå en homogen ensilasje. Dette gir også oksygentilførsel til hele ensilasjemassen. Ensilasjen vil være utsatt for høy temperatur (opptil 40°C), spesielt i sommermånedene. Høy temperatur og tilgang på oksygen er faktorer som bidrar til økt oksidering av fettsyrer (Choe & Min, 2006). Prosessen krever dermed en effektiv antioksidant. I denne oppgaven ble flere parametre lagt til grunn for å bedømme kvalitet. Dannelse av oksidasjonsprodukter, ble påvist ved måling av peroksidverdi og anisidinverdi. I tillegg ble det målt mengde frie fettsyrer (%) og tatt hensyn til at degradering av DHA (22:6n-3), som er den fettsyren som er mest følsom for oksidasjon (Shono & Toyomizu, 1971; Dulavik *et al.*, 1998; Skåra *et al.*, 2004).

I alle ensileringsforsøkene ble det i mange oljer målt lave peroksidverdier mens anisidinverdiene var overraskende høye. Det var forventet at peroksidverdien skulle være høyere enn påvist i flere lakseoljer, for å gi en tilsvarende høy anisidinverdi. Dette kan imidlertid skyldes flere faktorer. I følge Frankel (2005) brytes hydroperoksider fort ned under oksidering ved temperaturer over 100°C eller med tilstedeværelse av metaller eller lys. Ensilasjen var beskyttet for lys, men før separering ble ensilasjen varmet opp til 90°C i kokende vannbad. Dette kan ha medført at hydroperoksider i oljen har blitt nedbrutt i betydelig grad. Dette ser ikke ut til å ha påvirket fersk lakseolje, som gikk gjennom samme oppvarming forut for separering. Dette skyldes antageligvis at det i den ferske lakseoljen ikke var dannet betydelige mengder med hydroperoksider. En eventuell nedbrytning av hydroperoksider kan i tillegg også skyldes tilstedeværelse av metaller i ensilasjen. Slo og biprodukter som blir benyttet i ensilering inneholder blod. Jern er et transisjonsmetall, som blant annet fins bundet til hemoglobin i blodet. Metallioner i fri form er mer reaktive enn når bundet til andre stoffer. Under ensilering skjer det en hydrolyse av fiskemassen, det vil si en enzymatisk nedbrytning av sloet slik at ensilasjen får en flytende konsistens. Dette vil medføre frigjøring av en rekke stoffer, også jern og eventuelle andre metaller. Mengden metall tilstedeværende i ensilasjen kan dermed være tilstrekkelig til å provosere degradering av hydroperoksid i oljen og med det gi redusert peroksidverdi og påfølgende økt

anisidinverdi. Dette er sannsynlig, spesielt fordi ensileringen gikk over en forholdsvis lang periode. Dette kan forklare den høye anisidinverdien i ensilasjeoljene i forhold til fersk lakseolje.

På grunn av det antatte omfanget av degradering av hydroperoksider, kan ikke peroksidverdien brukes som noen god indikasjon på oksidasjonsomfanget, da vil det heller være anisidinverdien som gir uttrykk for oksidasjonsgraden i oljen. Dermed vil det bli tatt hensyn til at hydroperoksider mulig er brutt ned i bedømmelsen av kvalitet, og at anisidinverdien og DHA/16:0 ratio vil gi den beste indikasjon på harskningsgrad i fortsettelsen av diskusjonen.

I ensileringsforsøk I var mengden frie fettsyrer forholdsvis lik i alle oljer på 1-2 % (også for fersk lakseolje). Mengden oksidasjonsprodukter i olje framstilt ved ensilering, var betydelig høyere enn i fersk lakseolje. Lakseolje med ethoxyquin hadde en høy anisidinverdi og en lav peroksidverdi og denne oljen kunne se ut til å være av dårligst kvalitet. Etter 12 ukers lagring har imidlertid forholdet endret seg mye. Ox-natural 1500ppm inneholdt størst mengde oksidasjonsprodukter, med en peroksidverdi på 27 mmol peroksid/kg og en anisidinverdi på 44. Dette bekreftes ytterligere om man ser på degraderingen av DHA, hvor DHA/16:0 ratio for lakseolje med ox-natural var den laveste verdien målt på 0,3. Den begrensede stabiliteten til ox-natural 1500ppm bekreftes også av forsøkene med provosert oksidasjon (stabilitetsforsøk 1, figur 3). For lakseolje med ox-natural 2000ppm, ethoxyquin og ox-24-8-8 var DHA/16:0 ratio på 0,4. Lakseoljen med ox-natural 2000ppm har minst mengde oksidasjonsprodukter med en peroksidverdi på 3,6 og en anisidinverdi på 13. Dette kommer ikke like tydelig frem i DHA/16:0 ratio, men denne gir kun en indikasjon på harskningsgrad. I tillegg er det forholdsvis stor variasjon i de parallelle målingene.

I ensileringsforsøk II, hadde kontrollen mot all forventning best kvalitet. Denne lakseoljen hadde lavest mengde oksidasjonsprodukter og best DHA/16:0 ratio (0,5). For oljer med antioksidanter var mengden oksidasjonsprodukter forholdsvis lik. Lakseolje med Ox-24-8-8 og ethoxyquin hadde en noe lavere anisidinverdi på 22 enn lakseoljene med ox-natural 3000 og 2000ppm som hadde en anisidinverdi på henholdsvis 28 og 31. Det kan se ut som om degradering av DHA var mer betydelig for lakseolje med ethoxyquin og ox-24-8-8 ( $22:6n-3/16:0 = 0,3$ ) enn for lakseolje med ox-natural 2000ppm og 3000ppm hvor DHA/16:0 ratio

var på 0,4. Dette er litt uforståelig, men kan imidlertid skyldes at mengden fettsyrer identifisert i lakseolje med ethoxyquin og ox-24-8-8 var lavere enn for de to andre lakseoljene eller det kan skyldes en forholdsvis stor variasjon mellom parallellene.

I lakseolje fra ensileringsforsøk III var mengden oksidasjonsprodukter forholdsvis lik i alle lakseoljene med unntak av lakseolje med ethoxyquin, som hadde forholdsvis lav peroksidverdi på 0,6 mmol peroksid/kg og anisidinverdi på 9. Det som gjør dette forsøket litt mer interessant enn tidligere diskuterte forsøk er at det ble separert ut olje fra varmebehandlet ensilasje (varm) og ikke varmebehandlet ensilasje (kald). I forhold til mengde oksidasjonsprodukter hadde de fleste oljene separert ut fra varmebehandlet råstoff en noe lavere peroksidverdi og litt høyere anisidinverdi enn hva som var tilfelle for oljene separert direkte (kald) (unntaket var olje med ox-natural 2000ppm hvor anisidinverdien var lik i begge oljer og peroksidverdien var lavere i olje fra varmebehandlet råstoff). Dette kan man se som en indikasjon på at det har skjedd en nedbrytning av hydroperoksider i oppvarmingsprosessen. Frie fettsyrer var ganske lik for alle lakseoljer. Lakseoljen separert fra varmebehandlet ensilasje hadde gjennomgående en lavere mengde frie fettsyrer (%), enn olje separert direkte (kald). Dette kan muligens skyldes tilstedeværelse av aktive enzymer i oljen. DHA:16:0 ratio var på 0,6 for fersk lakseolje, lakseolje med ox-natural (1500 og 2000ppm) og ox-24-8-8. For lakseolje med ethoxyquin, ox-natural (500 og 1000ppm) og kontrollen var DHA/16:0 ratio på 0,5. Ethoxyquin hadde lavest AV og PV av ensilerte oljer i dette forsøket, men oksidasjon hadde antakelig ikke gått langt nok, slik at DHA/16:0 ratio i dette tilfellet ikke kan brukes som indikasjon på forskjell i oksidasjonsgrad mellom de ulike lakseoljene.

Ensilering påvirket kvaliteten av lakseolje. Dette ble bekreftet i både ensileringsforsøk I og III, hvor det i tillegg til oljer produsert ved ensilering, også ble produsert en ferskpresset olje. Dette var i utgangspunktet forventet, spesielt fordi oljen hadde kort prosesseringstid (1-2 timer) og umiddelbart ble lagret i lukket emballasje ved 4°C. Lakseolje fra ensilasje hadde minimum to ukers prosesseringstid ved romtemperatur, med tilgang på oksygen før lagring. Fersk lakseolje var også stabil ved lagring, og det ble påvist små mengder oksidasjonsprodukter også etter 12 ukers lagring (ensilasjeforsøk I). Mengden frie fettsyrer økte imidlertid fra 2 til 4 % under lagringsperioden (ensilasjeforsøk 1), noe som kan indikere at denne lakseoljen etter 12 ukers lagring kan være mer utsatt for oksidasjon. Økningen i mengden frie fettsyrer kan skyldes aktive enzymer fordi sloet ikke ble varmebehandlet til

90°C før oljen ble separert ut. Fersk lakseolje fra ensileringsforsøk I hadde imidlertid en DHA/16:0 ratio på 0,5, mens den var på 0,3 og 0,4 for de andre lakseoljene i forsøket. I og med at oljene var laget av samme råstoff, bekrefter dette ytterligere at ensilering stimulerer oksidasjon av fettsyrer. I ensileringsforsøk III hadde den ferske lakseoljen en DHA/16:0 ratio på 0,6. Dette hadde imidlertid flere av de ensilerte lakseoljene også (lakseolje med ox-natural 1500 og 2000ppm og ox-24-8-8). Dette kan være tilfeldig på grunn av variasjon mellom parallellene eller mengden identifiserte fettsyrer, men det kan også skyldes en noe kortere ensileringstid (15 dager mot 20 og 21 dager). Det kunne derfor vært interessant og sett på betydningen av ensileringstid i forhold til kvalitet av lakseolje.

Den ferske lakseoljen lagd i forbindelse med forsøk I, ble testet for innhold av ethoxyquin. Den inneholdt 0,06ppm ethoxyquin. Det foreligger ingen begrensninger i forhold til råstoffet med hensyn til gjeldende lover og regler. I lakseoljen som var tilsatt ca. 500ppm var ethoxyquin innholdet 644ppm. Det er dermed sannsynlig at det var tilsatt tilsvarende mengde ethoxyquin i denne lakseoljen. Grunnen til at ethoxyquin innholdet var høyere enn antatt kan skyldes at antioksidanter ble tilsatt i ml, mens slo ble veid for å beregne mengde syre og antioksidant. Det korrekte hadde vært å tilsette ethoxyquin i vektmål. Det kan imidlertid virke som om ethoxyquin følger fettfraksjonen. Dette kunne imidlertid vært interessant å undersøke, ved å tilsette ethoxyquin i mer nøyaktig mengde for så å analysere mengden i ferdig olje. Før skal ifølge den Europeiske unionen ikke inneholde mer enn 150ppm ethoxyquin. Som fôringrediens vil antakeligvis ikke mengden ethoxyquin være av stor betydning, ettersom fett normalt ikke blir tilsatt i store mengder (>30 %). I følge den Europeiske union er det ikke tillat å tilsette ethoxyquin i fôr til hunder, dermed vil situasjonen være en helt annen. For lakseolje tilsatt annen antioksidant, kan ikke rest av ethoxyquin fra laksefôret være av betydning, ettersom denne også generelt ligger under grenseverdien satt av WHO for mennesker (Bohne *et al.*, 2006).

Stabilitetsforsøkene ble utført med bruk av provosert oksidasjon (ved økt temperatur og innblanding av oksygen). Autooksidasjon av umettede fettsyrer kan, som tidligere nevnt, deles i tre faser: initiering, propagering og terminering. Det var derfor forventet at peroksidverdien skulle stige til et maksimum for så å synke på grunn av nedbrytning av hydroperoksider til andre oksidasjonsprodukter. Initieringsfasen gikk over en forholdsvis lang periode. Induksjon og utvikling av autooksidasjon påvirkes blant annet av mengden

flerumettede fettsyrer i oljen. Lakseoljen inneholdt ca. 20 % flerumettede fettsyrer, dermed vil sannsynligvis induksjonsfasen være lengre enn i oljer med større mengde flerumettede fettsyrer. Det ble ikke i noen av forsøkene observert en tydelig nedgang i peroksidverdien, med unntak av siste analysering av ox-natural 1500ppm (stabilitetsforsøk 1) og ox-24-8-8 (stabilitetsforsøk 3), men peroksidverdien så ut til å stagnere for flere av lakseoljene. Åpent system med god oksygentilgang kan være årsak til at ikke noen klar nedgang i PV ble observert. Spesielt gjaldt dette for lakseolje med ethoxyquin (stabilitetsforsøk 1 og 3). Den høyeste peroksidverdien målt i olje med ethoxyquin var 68 mmol peroksid per kg (i stabiliseringsforsøk 2), noe som er relativt lavt i forhold til at den høyeste peroksidverdien som var målt på 350 mmol peroksid/kg (i stabiliseringsforsøk 1, lakseolje med ox-24-8-8). Felles med alle stabiliseringsforsøkene er at olje med ethoxyquin gir en betrakterlig redusert peroksidverdi (inneforstått mengden hydroperoksider dannet). Dette bekrefter at ethoxyquin er en svært effektiv antioksidant. Stabilitetsforsøk 1, skiller seg noe ut fra stabilitetsforsøk 2 og 3. Her var det ikke laget en kontrollolje (uten antioksidant), og forskjellen på lakseolje med ethoxyquin og de andre antioksidantene var mer markant enn i de andre forsøkene. I dette forsøket hadde imidlertid lakseoljene vært lagret i 19 uker, mot 13 uker i stabilitetsforsøk 2 og 14 dager for stabilitetsforsøk 3. Man kan derfor tenke seg at initieringsfasen allerede var gjennomgått under lagring og at det er propageringsfasen som blir observert. Da samsvarer også dette stabilitetsforsøket med de to andre forsøkene. I stabilitetsforsøk 2, ser man tydelig forskjell på bruk av antioksidanter, kontra olje uten tilsatt antioksidant. Dette forsøket hadde kortere varighet enn de to andre forsøkene, men man kan tenke seg at peroksidverdien i lakseolje med ethoxyquin stabiliseres, mens den muligens vil skyte fart i lakseolje med ox-natural og ox-24-8-8, om forsøket hadde vært av lengre varighet. I stabilitetsforsøk 3 ble det brukt lakseoljer som hadde tre ukers lagringstid ved 4°C. Den ferske lakseoljen viser overraskende god stabilitet langt ut i forsøket. Dette kan skyldes økt tilstedeværelse og antioksidativ effekt fra naturlige antioksidanter i oljen og at den ikke hadde gjennomgått ensileringsperioden. Den ferske oljen var nesten like stabil som ensilert lakseolje med ox-natural 2000ppm og ox-24-8-8. Lakseoljene fra dette forsøket hadde kortest ensileringstid. Dette har sannsynligvis hatt betydning for at initieringstiden var noe lengre i dette forsøket, spesielt i sammenligning med stabilitetsforsøk 1. Det var interessant å se dannelsen av sekundære oksidasjonsprodukter (anisidinverdi) i den ferske oljen, hvordan mengden øker etterskuddsvis og noe saktere enn de primære oksidasjonsproduktene (peroksidverdi). Det samme var også tilfelle for kontrollen, med unntak av at denne oljen i utgangspunktet hadde

en forholdsvis høy anisidinverdi. Utviklingen var likevel etterskuddsvis. Dette er som følge teorien, skissert i figur 2. Avlesningen i spektrofotometer hadde en begrensning på 1 i forhold til avlesning etter reaksjon med anisidin, dermed var det ikke mulig å avlese anisidinverdier over 80 (i dette forsøket). Dette kunne imidlertid vært gjort ved uttynning av prøven, med for eksempel utblanding i en nøytral olje for å se på den videre utviklingen av mengden sekundære oksidasjonsprodukter dannet. I stabiliseringsforsøkene ble også farge og konsistens observert. Den gule fargen i de sterkt oksiderte oljene kommer antakeligvis fra oksidasjonsprodukter av astaxanthin. Den seige konsistensen er følge av polymerisering (termineringsreaksjoner) av fettsyrer i ulike triglyserider. Tilsvarende det man ser ved bruk av linoljer eller tran i maling. Den mørke fargen i olje med ethoxyquin er vanskelig å forklare, men kan skyldes maillardreaksjon som følge av reaksjon mellom karbonyl-grupper i sekundære oksidasjonsprodukter og amino- gruppen i ethoxyquin.

I ensileringsforsøk IV ble det laget ensilasje med seks konsentrasjoner av maursyre fra 1-3,5 %. Syrekonsentrasjonene fra 1,5 til 3,5 ga pH i området 3,6 til 3,2 mens 1 % maursyre ga pH 3,9 målt ved siste ensileringsdag. Dette ble primært gjort for å se om maursyrekonsentrasjonen hadde betydning for prosent frie fettsyrer i ensilasjeoljen. Det ble i tillegg separert ut olje fra et varmebehandlet parti (varm) og et parti som ikke var varmebehandlet (kald). Partiet som ikke var varmebehandlet (kald) hadde generelt en høyere mengde frie fettsyrer enn det varmebehandlede partiet. For olje fra ensilasje med  $\text{pH} \leq 3,6$  var det ingen stor forskjell i frie fettsyrer (%). Ensilasje med pH 3,9 derimot ga en olje som hadde betydelig større mengde frie fettsyrer i begge parti (varm og kald). Årsaken kan være at ved pH 3,9 men ikke ved  $\text{pH} < 3,6$ , så er lipaser aktive i ensilasjen. Det kunne dermed vært interessant og gjort forsøket på nytt for å se om en pH mellom 3,6 til 3,9 ville gi økende mengde frie fettsyrer i oljene. Det kan tenkes at syrekonsentrasjoner mellom 0,5 til 1,5 % vil gi ønskelig pH sprang. Det ble også målt oksidasjonsprodukter i disse oljene og generelt ble det målt en høyere peroksidverdi og en lavere anisidinverdi i olje fra partiet varmt (unntaket var ensilasje med maursyrekonsentrasjon på 3,5 %, hvor både peroksidverdi og anisidinverdi var lavere i olje fra det varmebehandlede partiet). Dette var det samme som for ensileringsforsøk III, og reduksjon i peroksidverdi, med økning av anisidinverdi, skyldes muligens nedbrytning av hydroperoksider, initiert av varmebehandlingen.

I ensilasjeoljene fra industriell produksjon ble det jevnt over målt en forholdsvis lav peroksidverdi og en høy anisidinverdi, med unntak av lakseoljen fra Fipro, som både hadde en høy peroksidverdi og en høy anisidinverdi. Jeg antar at dette skyldes ensileringsprosessen og videre bearbeiding, som ikke er skånsom nok for fettene i ensilasjen og generelt gir økning av anisidinverdi. Nå er det imidlertid uvisst hvordan disse oljene var lagret (varighet, temperatur, lys), noe som kan ha påvirket mengde oksidasjonsprodukter.

I lakseolje fra råensilasjen som ble mottatt, var mengde oksidasjonsprodukter forbausende lav. I olje fra tank 1 var anisidinverdien høyere enn peroksidverdien og det kan tenkes at dette skyldes degradering av hydroperoksider. For olje fra tank 2.1 og tank 2.2 var ikke dette tilfelle. Det er vanskelig å si noe konkret om disse oljene, med enkeltmålinger som dette, men resultatene tilsier at disse oljene antakeligvis har en forholdsvis god kvalitet. Disse prøvene var ikke varmebehandlet og har dermed fått en mer skånsomt behandling enn de industriproduserte ensilasjeoljene. Det vites heller ikke noe om ensileringstid, men denne vil sannsynligvis ha betydning for kvalitet av oljen.

De ferskpressede oljene fra Lifeline og Trema prosjekt var av ulik kvalitet. Umiddelbart ser det ut til at lakseoljen fra lifeline har gått gjennom en noe mer skånsom prosess enn lakseoljen fra Trema prosjekt, på grunn av den relativt høye anisidinverdien i sistnevnte. Dette er uvisst. Det kan like gjerne skyldes ulik holdbarhetstid, ulik kvalitet på råstoffet eller andre faktorer som innhold av metaller, varmebehandling osv. Lakseoljen fra Lifeline har forholdsvis lik kvalitet som den ferske lakseoljen som ble produsert i ensileringsforsøk III, det er dermed rimelig å anta at denne oljen kommer fra en lignende produksjonsmetode eller eventuelt var like fersk.

I forsøkene utført i forbindelse med denne oppgaven ble det benyttet 3 antioksidanter, 2 syntetiske (ethoxyquin og Ox-24-8-8) og en naturlig (ox-natural). Ethoxyquin var den antioksidanten som ga best stabiliseringseffekt. Ox-24-8-8 så ut til å være mer effektiv enn ox-natural, som for å gi lignende effekt måtte tilsettes i større konsentrasjoner. Ensilering som konserveringsmetode gir en olje som er betydelig oksidert, selv ved bruk av antioksidanter. Unntaket var ethoxyquin som ser ut til å hindre at oljene blir kraftig oksidert. Videreforedling av ensilasje, til produksjon av olje er heller ingen skånsom prosess (varmebehandling), og medfører ytterligere oksidering av oljen. Ensileringstid kan imidlertid være av betydning for

kvalitet av olje fra ensilering. Europeisk Pharmacopeia har utviklet kvalitetsparametere for olje fra oppdrettet laks. Blant annet er maksimumsverdier for anisidinverdi satt til 10 og peroksidverdi 2,5 mmol peroksid per kg olje. Ingen av ensilasjeoljene tilfredsstilte disse kvalitetskriteriene. For å forbedre kvalitet av ensilasjeolje, kunne det vært interessant og sett på produksjonsfaktorer som ensileringstid og grad av varmebehandling. Målesystemet med provosert oksidasjon (stabilitetsforsøk) ser imidlertid ut til å fungere godt som metode for å teste ut antioksidativ effekt. Denne metoden er enkel og kan justeres i forhold til temperatur og grad av omristning. Kvalitet av industrielt produsert lakseolje fra ensilering er av lignende kvalitet som lakseolje fra ensileringsforsøkene utført i denne oppgaven. Industrielt produsert ferskpressede lakseoljer ser ut til å være av bedre kvalitet. Den ene lakseoljen (fra Trema prosjekt) tilfredsstilte imidlertid ikke kvalitetskriterier fra den Europeiske pharmacopeia.



## 5 Referanser

- (2004) *Fakta om fisk*, Fiskeridirektoratet og Eksportutvalget for fisk
- AOCS (1990a) Peroxide value, American Oil and Chemists' Society official method cd 8-53, *AOCS Press, champaign, illinois*.
- AOCS (1990b) Anisidin value, American Oil and Chemists' Society official method cd 18-90. *AOCS Press, champaign, illinois*.
- Bekkevold, S. & Olafsen, T. (2007) *Råvarer med muligheter*, Trondheim, Stiftelsen Rubin.
- Blaszczuk, A. & Skolimwski, J. (2005) Apoptosis and cytotoxicity caused by ethoxyquin and two of its salts. *Cellular & Molecular Biology Letters*, **10**, 15-21.
- Bohne, V. J. B., Hamre, K. & Arukwe, A. (2006) Hepatic biotransformation and metabolite profile during a 2-week depuration period in Atlantic salmon fed graded levels of the synthetic antioxidant, ethoxyquin. *Toxicological Sciences*, **93**, 11-21.
- Calder, P. C. (2006) n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *American Journal of Clinical Nutrition*, **83**, 1505S-1519S.
- Choe, E. & Min, D. B. (2006) Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **5**, 169-186.
- Cozzolino, D., Murray, I., Chree, A. & Scaife, J. R. (2005) Multivariate determination of free fatty acids and moisture in fish oils by partial least-squares regression and near-infrared spectroscopy. *Lwt-Food Science and Technology*, **38**, 821-828.
- Dulavik, B., Sørensen, N. K., Barstad, H., Horvli, O. & Olsen, R. L. (1998) Oxidative stability of frozen light and dark muscles of saithe (*Pollachius virens* L.). *Journal of Food Lipids*, **5**, 233-245.
- Dzanis, D. A. (1991) Safety of ethoxyquin in dog foods. *Journal of Nutrition*, **121**, S163-S164.
- Frankel, E. N. (2005) *Lipid oxidation*, Bridgewater, Oily Press.
- Guo, L., Xie, M.-Y., Yan, A.-P., Wan, Y.-Q. & Wu, Y.-M. (2006) Simultaneous determination of five synthetic antioxidants in edible vegetable oil by GC-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **386**, 1881-1887.
- Hocman, G. (1988) Chemoprevention of cancer: Phenolic antioxidants (BHT, BHA). *International Journal of Biochemistry*, **20**, 639-651.
- Jensen, C. L. (2006) Effects of n-3 fatty acids during pregnancy and lactation. *American Journal of Clinical Nutrition*, **83**, 1452S-1457S.

- Ke, S. E., Woyewoda, A. D., Regier, L. W. & Ackman, R. G. (1976) An improved titrimetric method for determination of free fatty acid in fish oils. *Environment Canada, Fisheries and Marine service, Techn. Branch, halifax, Nova Scotia.*, **New series circular no. 61**.
- Olsen, J. V. & Tobiassen, T. (2004) Økt verdiskapning fra biprodukter og bifangst. Tromsø, Fiskeriforskning.
- Olsen, R. L. (2007) *Lipidkjemi med vekt på fisk*, Norges fiskerihøgskole, Universitetet i Tromsø.
- Psota, T. L., Gebauer, S. K. & Kris-Etherton, P. (2006) Dietary omega-3 fatty acid intake and cardiovascular risk. *American Journal of Cardiology*, **98**, 31-181.
- Rubin (1997) Olje fra lakseavskjær til hermetikkproduksjon. Trondheim, Stiftelsen RUBIN.
- Shono, T. & Toyomizu, M. (1971) Changes in Fatty Acids Constituting Lipids in Fish Muscle During Storage at Low Temperature Decrease Rate of C22-6 Acid as a Criterion for Oxidative Deterioration of Lipids. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, **37**, 912-&.
- Skåra, T., Sivertsvik, M. & Birkeland, S. (2004) Production of salmon oil from filleting byproducts - Effects of storage conditions on lipid oxidation and content of omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Journal of Food Science*, **69**, E417-E421.
- SSB (2005) Laksen nådde nye høyder i fjor. *10. 05 Fiske og fiskeoppdrett*. Statistisk sentralbyrå.
- Stoffell, W., Chu, F. & Ahrens, J. E. H. (1959) Analysis of long-chain fatty acids by gas-liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*, **31**, 307-308.